



Universidad de Santiago de Compostela

Departamento de Biología Celular y Ecología



Aplicación y selección de indicadores de calidad ecológica
en la utilización de fertilizantes orgánicos
para la producción de forraje



Tesis doctoral

Mariana de Matos Moreira

2009



Universidad de Santiago de Compostela

Departamento de Biología Celular y Ecología

Aplicación y selección de indicadores de calidad ecológica
en la utilización de fertilizantes orgánicos
para la producción de forraje

Tesis doctoral

Mariana de Matos Moreira

2009

Tesis doctoral co-dirigida por:

Dr. Emilio Carral Vilariño

Departamento de Biología Celular y Ecología

Universidad de Santiago de Compostela

Dr. Mário Campos Cunha

Secção Autónoma de Ciências Agrárias

Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Portugal

Financiamento:

La tesis doctoral de la alumna Mariana de Matos Moreira ha sido financiada por una beca, con referencia nº SFRH/BD/18486/2004, de la *Fundação para a Ciência e a Tecnologia* de Portugal.

D. Emilio Carral Vilariño, Catedrático de Escuela Universitaria del Área de Ecología de la Universidad de Santiago de Compostela,

INFORMA:

Que la Tesis Doctoral titulada “**Aplicación y selección de indicadores de calidad ecológica en la utilización de fertilizantes orgánicos para la producción de forraje**”, recogida en la presente memoria, de la que es autora la Licenciada en *Engenharia das Ciências Agrárias* Dña. **Mariana de Matos Moreira**, ha sido realizada bajo su codirección, y cumple las condiciones exigidas para que su autora pueda optar al grado de Doctora por la Universidad de Santiago de Compostela, por lo que da su aprobación para la correspondiente lectura y defensa.

Para que conste a los efectos oportunos, firma la presente en Lugo, a 7 de julio de 2009.



Fdo: Emilio Carral Vilariño
Doctor en CC. Biológicas



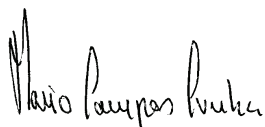
Fdo: Mariana de Matos Moreira

D. Mário Campos Cunha, Doctor en Ciencias Agrarias de la Universidad de Porto (Portugal),

INFORMA:

Que la Tesis Doctoral titulada “**Aplicación y selección de indicadores de calidad ecológica en la utilización de fertilizantes orgánicos para la producción de forraje**”, recogida en la presente memoria, de la que es autora la Licenciada en *Engenharia das Ciências Agrárias* Dña. **Mariana de Matos Moreira**, ha sido realizada bajo su codirección, y cumple las condiciones exigidas para que su autora pueda optar al grado de Doctora por la Universidad de Santiago de Compostela, por lo que da su aprobación para la correspondiente lectura y defensa.

Para que conste a los efectos oportunos, firma la presente en Lugo, a 7 de julio de 2009.



Fdo: Mário Campos Cunha
Doctor en Ciencias Agrarias



Fdo: Mariana de Matos Moreira

Agradecimientos

A mi tutor en Galicia, Profesor Emilio Carral, por apoyarme en todos los experimentos descritos en esta memoria y por confiar en mis decisiones.

A mi tutor en Porto, Profesor Mário Cunha, por su rigor en la ejecución y redacción de los trabajos, evitando siempre cualquier “faiscada”.

A la Profesora Teresa Rodríguez, del Departamento de Zoología de la USC, por su gran ayuda en la clasificación de la fauna del suelo y por su constante disponibilidad para discutir ideas y nuevas metodologías.

A la Profesora M^a Elvira López Mosquera, responsable del grupo de Investigación de Gestión de Residuos, por transmitirme su amplio conocimiento sobre la valorización de residuos.

A los Profesores María Jesús Sainz, responsable del programa de doctorado de Investigación Agraria y Forestal, Socorro Seoane, Esperanza Álvarez y Adolfo López, por su disponibilidad para esclarecer mis dudas de botánica o edafología.

A Moisés y Fermín Cendán, por haberme permitido la realización de los ensayos experimentales en sus fincas y por facilitar el purín.

A la empresa Lactalis-Leche de Galicia, por haber cedido los lodos y ponerme en contacto con los agricultores.

A Juan Carlos Serrano, responsable de la empresa Aviporto S.L., por facilitar el abono BIOF-1.

A Susi, por su ayuda en el procesamiento de muestras de suelo y de planta en el laboratorio y también por su inestimable amistad.

A Ruth, por escuchar mis desasosiegos y por ayudarme a plantear nuevos retos en mi trabajo. Gracias también por tu amistad!

A Puri y Marcos, por su ayuda en el tratamiento de los datos de la fauna del suelo y por el ánimo transmitido en la fase final del trabajo.

A Júlia Nienmeyer, profesor José Paulo Sousa y Tiago Natal da Luz de la Universidad de Coimbra (Portugal), por haberme enseñado técnicas tan novedosas de ecotoxicología.

A la profesora Elena Velásquez, de la Universidad Nacional de Colombia, y al profesor Patrick Lavelle, de la Universidad Paris VI, por haberme transmitido, con tanta emoción, el interés por la ecología del suelo y también por su colaboración en la aplicación del índice GISQ en este trabajo.

A Yvan Capowiez, Christophe Mazzia, Magali Rault y Odile Mascle, de la Unidad de Ecología de Invertebrados del *Institut National de Recherche Agronomique* de Avignon (Francia), por haberme introducido en el mundo de las lombrices y sobre todo por la buena disposición transmitida a la hora de trabajar.

A Paz, Manolita y Juan, del Departamento de Biología Animal, por el ánimo y buena disposición que me han dado durante las largas tardes de identificación de la fauna.

A Conchi y a Miguel, por el apoyo en las salidas de campo y en la identificación de la fauna del suelo.

A Emilio por estar siempre pendiente de cómo iba mi trabajo y, sobre todo, mi estado de ánimo.

A Sabela por su apoyo en las salidas de campo y por escuchar mis desventuras con los bichos.

A todos los demás compañeros de laboratorio por la ayuda en las salidas de campo y por compartir tantos cafés conmigo.

A la peña de estudiantes extranjeros (y alguno gallego) de Lugo, los que me animaban los fines de semana entre tapas en “Fonte do Rei” y comidas en la “Residencia Bal y Gay”. Sin querer olvidar a nadie, quiero hacer un agradecimiento especial a Lupe y a Marlene.

A todos los participante del Simposio y Curso “Agrodesarrollo 2009”, realizado en Cuba en vísperas de terminar de redactar esta memoria, por haberme transmitido tanta energía para afrontar la recta final.

A mi familia por el apoyo y confianza depositada en mi trabajo y por el cariño transmitido en cada visita a casa.

A Nico, por escucharme siempre, entre un buen vino y un buen queso, y por ayudarme a plantear los retos más desafiantes en mi trabajo y en mi vida.

Resumen

Aplicación y selección de indicadores de calidad ecológica en la utilización de fertilizantes orgánicos para la producción de forraje

El reciclaje de los residuos orgánicos a través de su incorporación en los suelos agrícolas y/o forestales es una de las vías aconsejadas para su eliminación, pues a la vez que el residuo es eliminado de forma económica, los suelos receptores se benefician de un aporte de materia orgánica y nutrientes. Sin embargo, la adición de dichos residuos puede ser también fuente de contaminantes orgánicos, de metales pesados y de patógenos, lo que puede provocar la degradación del medio y afectar a la salud humana y animal. Por este motivo, la aplicación de los residuos orgánicos en los suelos debe ser monitorizada. Es conocida la importancia de la fauna del suelo en el desempeño de sus funciones (ciclo de nutrientes, control de plagas, polinización, mantenimiento de la estructura, etc.), pero la evaluación de los impactos de la aplicación de los residuos en los organismos del suelo no está todavía contemplada en la legislación o en las normativas. Para contribuir al conocimiento en relación a este tema, el principal objetivo de los trabajos recogidos en esta memoria ha sido evaluar el impacto agronómico y ambiental de la aplicación, en un suelo de pradera en Galicia (NO España), de tres tipos de residuos orgánicos: purín de vacuno, estiércol deshidratado y granulado de pollo (Biof) y lodo de depuradora de industria láctea. Se han evaluado los efectos en parámetros químicos y biológicos del suelo y la sensibilidad de estos como indicadores.

En un ensayo de campo se han determinado, durante tres años, los parámetros químicos, la productividad y la composición botánica del cultivo. También se han estudiado las comunidades de macrofauna del suelo (aplicando índices de diversidad y técnicas de análisis multivariantes y multiparamétricas) en el mismo ensayo y en parcelas en las cuales no se ha cambiado el plan de fertilización utilizado por los agricultores. Además, se han realizado ensayos de laboratorio para determinar el impacto de estos residuos en parámetros de comportamiento (test de fuga de lombrices y colémbolos) y fisiológicos (mortalidad, crecimiento y bioacumulación en lombrices) de los organismos.

Estudiando los efectos en el suelo, se ha concluido que los residuos orgánicos utilizados (sobre todo el Biof y el lodo) han mejorado la fertilidad, principalmente por su contribución a paliar la acidez, y, consecuentemente, han estimulado la productividad del cultivo. No obstante, la estructura de las comunidades de macrofauna se ha visto afectada por la aplicación de estos residuos. Los grupos más afectados han sido las arañas y los carábidos. En los ensayos de laboratorio no se han observado efectos adversos en las lombrices y colémbolos, cuando se han aplicado las dosis adecuadas de residuos orgánicos. Se ha concluido que en la evaluación del impacto de la aplicación a los suelos de los residuos orgánicos, las analíticas químicas deben de ser complementadas con la evaluación del impacto de estos residuos en las comunidades de fauna. Los atributos de la fauna del suelo más sensibles a la fertilización con los residuos orgánicos estudiados y que se proponen como indicadores son: las poblaciones de arañas y carábidos, el comportamiento de fuga de lombrices y colémbolos y la variación de peso corporal de lombrices. Por otra parte, la presencia de vegetación de monte en las praderas gallegas deberá ser preservada, pues constituye una vía de conservación de la diversidad en estos ecosistemas.

Palabras-clave: residuo orgánico, lodo de depuradora de industria láctea, indicador ecológico, fauna del suelo, evaluación ecotoxicológica.

Abstract

Use and selection of ecological quality indicators for organic fertilizers' use in forage production

Organic waste recycling in agricultural/forestry lands is one of the most recommended options to eradicate them, since waste is eliminated in an economical way and receiver soils benefit from organic matter and nutrients input. Moreover, organic waste land disposal can also be a source of contaminants, trace metals and pathogens, which can lead to environmental degradation and to human and animal health concerns. For this reason, organic waste land disposal should be monitored. Soil fauna importance in soil functions performance is well known (nutrient cycling, pest control, pollination, maintenance of soil structure, etc.). However, the law doesn't predict an evaluation of organic waste disposal impacts in soil organisms. The main aim of the essays collected in this memory has been to evaluate, in a meadow soil in Galicia (NW Spain), agronomic and ecological land disposal impacts produced by three organic waste types: cattle slurry, dried pelletized broiler litter (Biof) and dairy sludge. Effects on soil chemical and biological parameters and their suitability as indicators have been evaluated.

In a field trial, chemical parameters, crop productivity and botanical composition have been determined for three years. Soil macrofauna communities have also been studied (by applying diversity indices and multivariate and multiparametric techniques) in the same trial and in monitored plots, where the farmer's fertilization plan has not been modified. In addition, bioassays have been performed to determine organic waste effect on organisms' behaviour (earthworms and collembolan avoidance behaviour test) and physiological parameters (mortality, growth and bioaccumulation).

Concerning effects on soil, it has been concluded that analysed organic wastes (mainly Biof and sludge) have improved fertility, mainly due to their contribution to soil acidity mitigation, and in consequence crop productivity has been stimulated. Nonetheless, soil fauna communities' structure has been affected by organic waste disposal. The most affected groups were spiders and ground beetles. No adverse results have been observed

in earthworms or collembolan, when appropriate doses have been applied in laboratorial conditions. It has been concluded that chemical analysis should be matched with soil fauna communities' evaluation to assess organic waste disposal effects. Attributes which were more sensitive to organic waste disposal that can be proposed as indicators are: spiders and ground beetles populations; avoidance behaviour of earthworms and collembolan; and earthworms' body weight change. On the other hand, shrub vegetation in sown meadows should be preserved in order to contribute to the ecosystem's diversity preservation.

Key-words: organic waste, dairy sludge, ecological indicator, soil fauna, ecotoxicological evaluation.

Résumé

Application et sélection d'indicateurs de qualité écologique pour l'utilisation d'engrais organiques dans la production de fourrage

Le recyclage des déchets organiques via son épandage sur les terrains agricoles ou forestiers est une des voies conseillée pour son élimination, puisque le déchet est éliminé et les sols récepteurs bénéficient d'un apport en matière organique et en nutriments. Cependant, l'épandage de ces déchets peut aussi être source de contaminants, métaux lourds et pathogènes qui peuvent provoquer la dégradation du milieu et affecter la santé humaine et animale. En conséquence, l'épandage de déchets organiques doit être suivi. L'importance de la faune du sol sur le fonctionnement de celui-ci est bien connue (cycle de nutriments, contrôle de plaies, pollinisation, maintenance de la structure, etc.), mais l'évaluation des impacts de l'épandage de déchets sur les organismes du sol n'est pas encore prise en compte dans les diverses législations ou normes. Pour contribuer à sa connaissance, le but principal des travaux réunis dans ce mémoire est l'évaluation de l'impact agronomique et écologique de l'épandage de trois types de déchets, dans un sol de prairie en Galice (NO Espagne),: lisier de bovin, fumier déshydraté et granulé de volailles (Biof) et boue d'épuration d'une industrie laitière. Leurs effets sur divers paramètres chimiques et biologiques du sol et leur adéquation en tant qu'indicateurs ont été évalués.

Dans un essai en conditions de champ, durant trois ans, les paramètres chimiques, la productivité et la composition botanique de la culture ont été déterminés. Ont été aussi étudiées les communautés de la macrofaune du sol (en appliquant des indices de diversité et des analyses multivariées et multiparamétriques) dans le même essai et dans les parcelles où le plan de fertilisation mis en marche par les agriculteurs n'a pas été modifié. De plus, des bioessais en laboratoire ont été réalisés pour déterminer l'impact de ces déchets sur des paramètres de comportement (test d'évitement de vers de terre et collemboles) et physiologiques (mortalité, croissance et bioaccumulation de vers de terre) des organismes.

Au niveau des effets sur le sol, on a conclu que les déchets organiques étudiés (surtout le Biof et la boue) ont amélioré sa fertilité, fondamentalement par sa contribution à l'atténuation de l'acidité, et en conséquence ont stimulé la productivité de la culture. Cependant, la structure des communautés de la macrofaune du sol a été perturbée. Les groupes les plus affectés ont été les araignées et les carabidés. Dans les bioessais de laboratoire, aucuns effets adverses n'ont été observés chez les vers de terre et collemboles, lorsque les doses adéquates ont été épandues. Il a été conclu que pour évaluer l'impact de l'épandage de déchets organiques, les analyses chimiques doivent être complétées par l'évaluation de l'impact de ces déchets sur les communautés de la faune du sol. Les paramètres les plus sensibles à la fertilisation avec ces déchets et qui pour cela ont été retenus comme indicateurs sont : les populations d'araignées et carabidés, le comportement d'évitement de vers de terre et collembole et la variation du poids corporel des vers de terre. En outre, la présence de végétation native à côté des prairies en Galice doit être préservée étant donné qu'elle favorise la conservation de la diversité dans cet écosystème.

Mots-clé: résidu organique, boues de laiterie, indicateur écologique, faune du sol, évaluation écotoxicologique

Índice

Introducción	1
I. Revisión bibliográfica	5
1. Materia orgánica del suelo	6
2. Residuos orgánicos biodegradables	7
2.1. Ventajas de su valorización agrícola	7
2.2. Tipos de residuos orgánicos biodegradables	9
2.2.1. Estiércoles	10
2.2.2. Purines	11
2.2.3. Lodos de depuradora	12
2.3. Riesgos de contaminación	14
2.4. Tratamiento de residuos orgánicos	16
2.4.1. De estiércoles y purines	16
2.4.2. De lodos de depuradora	17
2.5. Legislación aplicable	18
3. La fauna del suelo	21
3.1. Características generales	21
3.2. Prácticas agrícolas que amenazan a la fauna del suelo	21
3.2.1. Cambio en el uso del suelo	21
3.2.2. Laboreo	22
3.2.3. Aplicación de herbicidas	22
3.2.4. Fertilización	22
4. Indicadores de calidad del suelo	23
4.1. Principales tipos de indicadores	24
4.1.1. Indicadores basados en la fauna del suelo	25
4.1.2. Cuantificación de la fauna del suelo	26
4.1.2.1. Comunidades	26
4.1.2.2. Organismos y poblaciones	31
II. Material y Métodos	37
1. Experimentos de campo	38
1.1. Descripción de la zona	38
1.2. Ensayo Dirigido	40
1.2.1. Diseño experimental	40

1.2.2. Residuos orgánicos	42
1.3. Parcelas Monitorizadas.....	44
1.4. Muestreo y procesado de las muestras	45
1.4.1. Muestras de suelo	45
1.4.2. Muestras de planta	46
1.4.3. Muestras de las comunidades de macrofauna.....	47
1.5. Tratamiento de los datos.....	48
1.5.1. Datos de suelo.....	48
1.5.2. Datos de planta	49
1.5.3. Datos de fauna	49
1.5.3.1. Análisis descriptivo de las comunidades de macrofauna	49
1.5.3.2. Análisis multivariante de las comunidades de macrofauna.....	50
1.5.3.3. Índice global de calidad del suelo (GISQ).....	52
2. Bioensayos.....	54
2.1. Test de fuga	54
2.1.1. Parcelas de estudio y muestreo.....	54
2.1.2. Análisis físico-químicos	54
2.1.3. Test de fuga	55
2.1.3.1. Test de fuga con lombrices y colémbolos	55
2.1.3.2. Condiciones experimentales	55
2.1.4. Análisis estadístico	57
2.2. Test del efecto de dosis crecientes en lombrices	58
2.2.1. Características del suelo control.....	58
2.2.2. Condiciones experimentales	59
2.2.3. Tratamiento de los datos.....	61
III. Resultados y Discusión.....	63
1. Efecto en los parámetros químicos del suelo, en la productividad y en la composición botánica del forraje.....	64
1.1. Evolución de los parámetros del suelo	64
1.2. Productividad y composición botánica del forraje	71
1.3. Síntesis de los resultados obtenidos para los parámetros químicos del suelo, productividad y composición botánica del forraje	74
2. Efecto en las comunidades de macrofauna del suelo	76
2.1. Caracterización general de las comunidades de macrofauna	76
2.1.1. Evolución temporal de los efectivos y número de taxones	76

2.1.2. Distribución de abundancias de los individuos por los diferentes taxones	78
2.1.3. Distribución de los individuos por grandes grupos taxonómicos.....	79
2.2. Aplicación de índices de diversidad	82
2.2.1. Influencia de la fecha de muestreo y del tratamiento fertilizante.....	82
2.2.2. Evolución temporal de los índices de diversidad	83
2.3. Discriminación multivariante de grupos de las comunidades de macrofauna.	86
2.3.1. Discriminación entre épocas de muestreo	86
2.3.2. Discriminación de grupos en primavera y en otoño	90
2.3.2.1. Efecto del tipo de uso del suelo (factor <i>shrub</i>).....	90
2.3.2.2. Efecto de la aplicación de fertilizantes (factor <i>control</i>)	92
2.3.2.3. Efecto de la aplicación de residuos orgánicos (factor <i>fertilizer</i>)	93
2.3.3. Discriminación de los tratamientos fertilizantes estudiados	96
2.3.4. Arañas y Carábidos: posibles indicadores de la intensificación agrícola en praderas de Galicia	97
2.4. Efecto de la variabilidad espacial en los parámetros analizados	98
2.4.1. Caracterización de las comunidades de macrofauna en Parcelas Monitorizadas	98
2.4.1.1. Evolución temporal de los efectivos y número de taxones	98
2.4.1.2. Distribución por grandes grupos taxonómicos	100
2.4.2. Índices de diversidad en las comunidades de Parcelas Monitorizadas...	102
2.4.3. Discriminación de grupos en Parcelas Monitorizadas.....	103
2.4.3.1. Efecto de la época de muestreo (factor <i>season</i>)	105
2.4.3.2. Efecto de la conversión de monte en pradera (factor <i>shrub</i>).....	106
2.4.3.3. Efecto de la aplicación de residuos orgánicos (factor <i>fertilizer</i>)	107
2.5. Síntesis de los resultados obtenidos en el Ensayo Dirigido y en las Parcelas Monitorizadas (agricultores)	109
2.6. Indicador global da calidad del suelo (GISQ)	113
2.6.1. Construcción del GISQ.....	113
2.6.2. Validación del GISQ	117
2.6.2.1. A nivel temporal	117
2.6.2.2. A nivel espacial	119
2.6.3. Síntesis de los resultados obtenidos utilizando el GISQ	121
3. Efecto en los organismos del suelo: comportamiento de fuga de lombrices y colémbolos.....	122
3.1. Caracterización de los suelos.....	122
3.2. Test de fuga con <i>Eisenia fetida</i> y <i>Folsomia candida</i>	125

3.2.1. Uso del suelo: parcelas fertilizadas vs. Monte	125
3.2.2. Estrategias de fertilización.....	127
3.2.2.1. Fertilización convencional (C) vs Fertilización complementada con lodos (L)	127
3.2.2.2. Tiempo de maduración del lodo (L3 vs L4).....	129
3.3. Síntesis de los resultados obtenidos en los test de fuga.....	129
4. Efectos en la mortalidad, variación del peso corporal y bioacumulación en <i>Eisenia fetida</i>	131
4.1. Tasa de mortalidad de <i>Eisenia fetida</i>	131
4.2. Variación del peso corporal de <i>Eisenia fetida</i>	132
4.3. Caracterización química de las mezclas suelo-residuo y bioacumulación de nutrientes en <i>Eisenia fetida</i>	135
4.4. Metales pesados en las mezclas suelo-residuo y su bioacumulación en <i>Eisenia fetida</i>	139
4.4.1. Metales pesados en el suelo.....	141
4.4.2. Metales pesados en el tejido de <i>Eisenia fetida</i>	141
4.4.3. Factor de bioconcentración de metales (BF)	142
4.5. Síntesis de los resultados obtenidos sobre el efecto de dosis crecientes de residuos orgánicos en <i>Eisenia fetida</i>	143
IV. Conclusiones	145
Referencias bibliográficas	149
ANEXO I- Procesos de producción del estiércol deshidratado y granulado de pollo (Biof) y de los lodos utilizados en los trabajos experimentales	165
1. Biof.....	165
2. Lodos	166
ANEXO II- Introducción y conclusiones traducidas al francés para efectos de solicitud de Mención Europea en el título de Doctor	169
1. Introduction	169
2. Conclusions	172

Índice de Tablas

Tabla I-1. Producción de deyecciones animales en Galicia y España en 2003.....	10
Tabla I-2. Composición en N, P ₂ O ₅ y K ₂ O de diferentes deyecciones en Galicia.....	11
Tabla I-3. Producción de leche en Galicia y en España según especies en 2007.....	13
Tabla I-4. Interacción entre la fauna del suelo y la calidad del suelo.....	27
Tabla II-1. Características medias de los residuos orgánicos utilizados y dosis medias aplicadas.....	43
Tabla II-2. Concentraciones medias de metales pesados en los residuos orgánicos y límites propuestos en la legislación.....	44
Tabla II-3. Meses de toma de muestras de suelo, planta y fauna, entre 2002 y 2007. ...	46
Tabla II-4. Caracterización del suelo y de los residuos orgánicos utilizados en los test con dosis crecientes.....	59
Tabla III-1.1. Evolución de los parámetros químicos en los distintos tratamientos y en todos los muestreos.....	66
Tabla III-1.2. Correlación entre saturación en Al y pH H ₂ O, pH KCl y productividad de forraje en todos los muestreos.....	67
Tabla III-1.3. Relaciones entre nutrientes (media ± desviación típica) en los suelos de los distintos tratamientos, calculadas para cada año del ensayo.....	71
Tabla III-2.1. Abundancia de la macrofauna del suelo en los diferentes tratamientos fertilizantes en las diferentes fechas (n=4) y en el total de los muestreos (n=20).....	77
Tabla III-2.2. Distribución lognormal de las comunidades de macrofauna en las parcelas sometidas a distintos tratamientos.....	78
Tabla III-2.3. Análisis de similitud de las comunidades de macrofauna entre los distintos tratamientos para los diferentes factores estudiados.....	86
Tabla III-2.4. Taxones responsables de la discriminación de grupos utilizando <i>season</i> como factor.....	89
Tabla III-2.5. Análisis de similitud de las comunidades de macrofauna capturadas en primavera o en otoño entre los distintos tratamientos y para los diferentes factores estudiados.....	90
Tabla III-2.6. Taxones responsables por la discriminación de grupos utilizando <i>shrub</i> como factor para los muestreos de primavera.....	91
Tabla III-2.7. Taxones responsables por la discriminación de grupos utilizando <i>control</i> como factor para los muestreos de primavera.....	92
Tabla III-2.8. Taxones responsables por la discriminación de grupos utilizando <i>fertilizer</i> como factor para los muestreos de primavera.....	95
Tabla III-2.9. Análisis de similitud cruzado de dos factores (<i>season</i> y <i>treatment</i>) de las comunidades de macrofauna entre los distintos tratamientos fertilizantes.....	96
Tabla III-2.10. Abundancia de la macrofauna del suelo en las Parcelas Monitorizadas en las diferentes fechas de muestreo (n=4) y para el total de los muestreos (n=8).....	99

Tabla III-2.11. Análisis de similitud para los factores <i>season</i> , <i>shrub</i> y <i>fertilizer</i> utilizando todos los datos de abundancia.	104
Tabla III-2.12. Taxones responsables de la discriminación de grupos utilizando <i>season</i> como factor.	105
Tabla III-2.13. Taxones responsables de la discriminación de grupos utilizando <i>shrub</i> como factor.	106
Tabla III-2.14. Taxones responsables de la discriminación de grupos utilizando <i>shrub</i> como factor, en primavera.	107
Tabla III-2.15. Taxones responsables de la discriminación de los grupos de las parcelas Convencional, Lodos y Monte utilizando <i>fertilizer</i> como factor.	107
Tabla III-2.16. Taxones responsables de la discriminación de los grupos de las parcelas Convencional, Lodos y Monte utilizando <i>fertilizer</i> como factor, en primavera.	109
Tabla III-2.17. Comparación entre el Ensayo Dirigido y las Parcelas Monitorizadas: caracterización general de las comunidades e índices de diversidad.	110
Tabla III-2.18. Comparación entre el Ensayo Dirigido y las Parcelas Monitorizadas: análisis multivariante.	111
Tabla III-2.19. Variables seleccionadas para el cálculo de cada uno de los subindicadores y su respectiva contribución para los ejes F1 y F2 del círculo de correlación.	115
Tabla III-2.20. Valores obtenidos (media \pm desviación típica) para cada uno de los subindicadores y para el GISQ en cada uno de los tratamientos estudiados.	115
Tabla III-2.21. Contribución e inercia de cada uno de los subindicadores y cálculos de los coeficientes para la fórmula del GISQ.	116
Tabla III-3.1. Características físico-químicas de los suelos de cada parcela (media \pm desviación típica).	123
Tabla III-4.1. Modelo de regresión utilizando la dosis de aplicación de residuos orgánicos como “predictor” de la variación de peso corporal de <i>Eisenia fetida</i> (variable dependiente) después de un periodo de exposición de 28 días.	135
Tabla III-4.2. Características químicas de las mezclas suelo-residuo en el final del experimento (28 días) (media \pm desviación típica).	136
Tabla III-4.3. Correlación entre la saturación en Al y otros parámetros del suelo.	138
Tabla III-4.4. Correlaciones entre las concentraciones en el tejido de <i>Eisenia fetida</i> y las concentraciones en la mezcla suelo-residuo en el final del experimento.	138
Tabla III-4.5. Modelos de regresión utilizando la dosis de aplicación del residuo orgánico como “predictor” de la acumulación en el tejido de <i>Eisenia fetida</i> (variable dependiente) en el final del experimento.	139
Tabla III-4.6. Concentraciones de metales pesados en las mezclas suelo-residuo y en el tejido de <i>Eisenia fetida</i> y factores de bioconcentración.	140
Tabla III-4.7. Valores de LC50 descritos para <i>Eisenia fetida</i>	143

Índice de Figuras

Figura II-1. Experimentos realizados en campo y en laboratorio, tratamientos fertilizantes estudiados y parámetros registrados para el análisis de datos.	39
Figura II-2. Vista general del Ensayo Dirigido en noviembre de 2002, dimensiones de las unidades experimentales y de los pasillos y localización de la zona de referencia (Monte).	41
Figura II-3. Disposición al azar en el terreno de las parcelas en estudio (representadas en gris).	42
Figura II-4. Volumen anual de lodos aplicados y fechas de aplicación en las parcelas L1, L2, L3 y L4 entre los años 2004 y 2007.	45
Figura II-5. Características y dimensiones de la trampa <i>pitfall</i>	47
Figura II-6. Test de fuga con lombrices: a) antes y b) después del cierre del recipiente.	56
Figura II-7. Test de fuga con colémbolos: a) pesando los suelos, b) succión de los colémbolos de su medio de cultivo, c) incubación, d) contabilización de los colémbolos.	57
Figura II-8. Test con dosis crecientes: a) ejemplo de uno de los recipientes con la mezcla suelo-residuo y una lombriz, b) depuración de las lombrices.	61
Figura III-1.1. Gráficos de dispersión, varianzas totales explicadas por tres componentes y matriz de componentes rotados para los parámetros químicos del suelo en 2002 (n=60), 2003 (n=60) y 2004 (n=80).	65
Figura III-1.2. Producción anual de forraje (kg ha ⁻¹ MS) en los distintos tratamientos.	71
Figura III-1.3. Precipitaciones y temperaturas medias mensuales en los años 2002, 2003 y 2004.	72
Figura III-1.4. Composición botánica anual del forraje en los distintos tratamientos....	73
Figura III-2.1. Curvas de distribución lognormal de abundancia de individuos en todos los tratamientos ensayados.	79
Figura III-2.2. Distribución de los individuos capturados por grandes grupos taxonómicos (n=120).	80
Figura III-2.3. Distribución porcentual de la abundancia total de individuos: a) en el total de tratamientos ^a b) por tratamiento ^b	80
Figura III-2.4. Comparación de medias de abundancias de individuos de los grupos taxonómicos Araneae, Hemiptera, Diptera y Coleoptera en todos los tratamientos a lo largo de los cinco muestreos realizados.	82
Figura III-2.5. Evolución a lo largo de las cinco fechas de muestreo de los índices de diversidad.	84
Figura III-2.6. Dendrograma de todos los tratamientos y todas las fechas de muestreo.	87
Figura III-2.7. Ordenación MDS de todos los tratamientos y de todas las fechas de muestreo.	88
Figura III-2.8. Dendrograma de todos los tratamientos en los muestreos de primavera.	94

Figura III-2.9. Ordenación MDS de todos los tratamientos en los muestreos de primavera.....	94
Figura III-2.10. Distribución de los individuos capturados por grupo taxonómico (n=56).....	100
Figura III-2.11. Abundancias de individuos de los grupos taxonómicos Araneae, Diptera y Coleoptera en todas las parcelas en los dos muestreos realizados.	101
Figura III-2.12. Evolución de los índices de diversidad a lo largo de los dos muestreos.	102
Figura III-2.13. Dendrograma de todas las parcelas y todas las fechas de muestreo... ..	104
Figura III-2.14. Ordenación MDS de todas las parcelas y de todas las fechas de muestreo.	105
Figura III-2.15. Círculo de correlación y representación de los tratamientos en dos ejes obtenidos con los datos de macrofauna.	113
Figura III-2.16. Círculo de correlación y representación de los tratamientos en dos ejes obtenidos con las características químicas del suelo.	114
Figura III-2.17. Círculo de correlación y representación de los tratamientos en dos ejes obtenidos con los datos de materia orgánica.	114
Figura III-2.18. Círculo de correlación y representación de los tratamientos en dos ejes obtenidos con el GISQ.....	117
Figura III-2.19. Evolución de los subindicadores macrofauna, químico y MO en cada tratamiento a lo largo de los cinco muestreos.....	118
Figura III-2.20. Evolución del GISQ en cada tratamiento a lo largo de todos los muestreos.	119
Figura III-2.21. Valores de los subindicadores (Macrofauna, Químico y MO) y del GISQ para los dos muestreos.	120
Figura III-3.1. Gráfico de dispersión, varianzas totales explicadas por tres componentes y matriz de componentes rotadas para los parámetros químicos del suelo.....	124
Figura III-3.2. Porcentaje de lombrices (a, b) y de colémbolos (c, d) en los test de fuga (media \pm desviación típica).....	126
Figura III-4.1. Mortalidad de lombrices (%) acumulada en los diferentes tratamientos y diferentes dosis a lo largo del experimento.....	131
Figura III-4.2. Evolución de la variación del peso corporal de las lombrices durante el tiempo de exposición.	134
Figura Anexo-1. Producción de Biof: a) Planta de transformación del estiércol, b) y c) producto comercial obtenido de la deshidratación y granulado del estiércol.....	165
Figura Anexo-2. Producción de lodos: a) decantador de las aguas residuales, b) digestor aeróbico, c) floculador.....	166

Introducción

En un pasado no muy lejano, las prácticas agrícolas tradicionales se basaban en la aplicación de residuos orgánicos, sobre todo de estiércoles y de purines, en el suelo. De este modo se favorecía el reciclado gradual de los nutrientes y se mejoraban los niveles de materia orgánica de los suelos. En ese entonces, los impactos de estos residuos en el medio eran reducidos, debido tanto a la calidad de los productos añadidos como a su baja disponibilidad. En los últimos cincuenta años, la intensificación de la actividad agrícola y ganadera ha llevado a un incremento de los efectivos ganaderos por explotación y consecuentemente a la producción y acumulación de grandes cantidades de residuos. El incremento de los efectivos ganaderos asociado a la disminución de la autosuficiencia forrajera de la explotación y/o a la aplicación de fertilizantes minerales y de pesticidas para la producción de forraje ha debilitado la relación de complementariedad entre las producciones agrícola y ganadera, por lo que la aplicación de los residuos orgánicos animales en el suelo se ha convertido en una importante cuestión ambiental. Una insuficiente gestión de los residuos en la explotación puede afectar los cursos de agua, las cadenas tróficas y contribuir a la polución de la atmósfera. Asimismo, el desarrollo de las actividades agro-ganaderas, además de los aspectos agronómicos, necesita considerar cada vez más los impactos ambientales que puedan producir y deberá incluir en su manejo el concepto de producción sostenible, fundamentalmente a través del aprovechamiento del valor fertilizante de sus residuos, mediante una aplicación racional al suelo y su valorización.

Juntamente con la intensificación de la actividad agrícola y ganadera, el incremento de la población, su concentración en grandes centros urbanos y sus rutinas, han contribuido a la expansión de las industrias agro-alimentarias, para asegurar la transformación y la conservación de los productos durante más tiempo y facilitar su distribución sin que haya pérdidas de calidad. Estas industrias son un sector relevante en la economía y su actividad está frecuentemente asociada a la producción de diferentes residuos orgánicos biodegradables.

En regiones como Galicia, en donde la actividad agraria está centrada en la cría de bovinos para producción de leche, las industrias que se dedican a su procesado y envase constituyen una parte fundamental del sector agroalimentario y el volumen de residuos

orgánicos generados puede ser importante. En los últimos años, el incremento de la actividad industrial generadora de aguas residuales y la generalización de los sistemas para su tratamiento han provocado el incremento de la producción de lodos de depuradora, empezando a surgir problemas para su eliminación de forma económica y con reducido impacto ambiental. El reciclaje de estos residuos orgánicos a través de su incorporación en los suelos agrícolas y/ forestales es una de las vías aconsejadas para su eliminación, pues a la vez que el residuo es eliminado de forma económica, los suelos receptores se benefician de un aporte de materia orgánica y nutrientes.

Sin embargo, la aplicación de los residuos orgánicos (agroganaderos o industriales) en los suelos no está exenta de riesgos que pueden provocar la degradación del medio y afectar a la salud humana y animal. Así que es fundamental reglamentar y monitorizar el empleo de estos materiales en los suelos.

En la actualidad, la reglamentación de la utilización de los residuos orgánicos en los suelos agrícolas está limitada a los contenidos en nutrientes presentes en el residuo, a las necesidades del cultivo receptor, al contenido de contaminantes del residuo, al riesgo de contaminación de las aguas por nitratos y al contenido de metales pesados en el residuo y en los suelos. Sin embargo, la comprensión ecológica de los efectos antropogénicos inducidos en la biología del suelo es esencial para paliar el impacto de la actividad humana y conservar la biología (McGeoch, 1998).

Asimismo, la monitorización de prácticas antropogénicas, como son la aplicación de los residuos orgánicos, debe de contemplar también la biología del suelo. Entre las calidades de la biología del suelo, la sensibilidad de la fauna a las perturbaciones del medio y el hecho de integrar procesos físicos, químicos y biológicos son atributos que permiten su utilización como indicador del impacto de prácticas antropogénicas en las comunidades bióticas (Blair et al., 1996; Doube y Schmidt, 1997; Paoletti, 1999; Olfert et al., 2002; Lavelle et al., 2006).

La identificación de los efectos de la aplicación de residuos orgánicos en la fauna del suelo con base en la especificidad local es un primer paso hacia la conservación de los agroecosistemas de pradera en Galicia.

Objetivos

El principal objetivo de la tesis doctoral recogida en esta memoria ha sido evaluar los efectos químicos y biológicos de la aplicación de residuos orgánicos en suelos de pradera de Galicia. Se ha adoptado una evaluación integrada, en donde los análisis químicos del suelo y de los residuos han sido combinados con la productividad del cultivo y con parámetros de la biología del suelo (a nivel de comunidades y a nivel del individuo) con el fin de encontrar indicadores de los efectos de esos residuos. Para ello, se han contemplado los siguientes objetivos específicos:

1. Evaluar en condiciones de campo los efectos plurianuales de tres residuos orgánicos (purín de vacuno, lodos de depuradora de industria láctea y estiércol deshidratado y granulado de pollo) en las características físico-químicas del suelo, en la productividad y en la composición botánica del forraje, con el objetivo de encontrar parámetros que puedan servir como indicadores de calidad del suelo en condiciones de acidez y buen nivel de materia orgánica.
2. Comprobar, a través de medidas ecológicas apropiadas y utilizando diferentes escalas (temporal y espacial), si la utilización de las comunidades de macrofauna del suelo tiene potencial para evaluar el impacto de la aplicación de residuos orgánicos.
3. Contribuir a la caracterización ecotoxicológica de los residuos orgánicos utilizados, a través de la cuantificación de parámetros de comportamiento (test de fuga con lombrices y colémbolos) y de parámetros fisiológicos (mortalidad, crecimiento y bioacumulación en lombrices) y evaluar el potencial de estos parámetros como indicadores ecológicos para monitorizar la valorización agrícola de residuos orgánicos.

Estructura general del trabajo

Para lograr los objetivos propuestos, en el capítulo I, y a través de una revisión bibliográfica, se abordan los aspectos generales relacionados con los conceptos de residuos orgánicos (tipos, características, legislación), calidad del suelo (definición y indicadores) y fauna del suelo (funciones y monitorización). La metodología del trabajo experimental se presenta en el capítulo II, donde se describe la zona de estudio, el

diseño experimental y los principales protocolos utilizados en el muestreo y procesado de las muestras obtenidas en los experimentos de campo y de laboratorio, bien como las herramientas utilizadas en el tratamiento de los datos. Los resultados y su discusión se presentan en el capítulo III, que está subdividido en cuatro partes en función de los datos presentados:

- En la primera parte se analizan los parámetros químicos, la productividad y la composición botánica del forraje obtenidos en un ensayo de campo (con parcelas delimitadas y sometidas a la fertilización con diferentes residuos orgánicos) (*Ensayo Dirigido*), con el reto de responder al objetivo específico 1.
- En la segunda parte se tratan los datos obtenidos para las comunidades de macrofauna en el ensayo de campo (*Ensayo Dirigido*) y en parcelas agrícolas en las que no se ha cambiado el plan de fertilización/manejo adoptado por el agricultor (*Parcelas Monitorizadas*) y se procura contestar al segundo objetivo específico presentado.
- La tercera parte está fundamentada en los datos obtenidos en los test de fuga con lombrices y colémbolos y busca dar respuesta a una parte del último objetivo específico planteado. La parte práctica se ha realizado en colaboración con el Departamento de Zoología de la Facultad de Ciencias y Tecnología de la Universidad de Coimbra (Portugal).
- La última parte está basada en los datos obtenidos para los parámetros fisiológicos de lombrices y procura responder a otra parte del tercer objetivo presentado. En este trabajo se ha aplicado la metodología ensayada durante una estancia en el Laboratorio de Toxicología Ambiental del *Institut National de Recherche Agronomique* (INRA) de Avignon (Francia),

Se finaliza en el capítulo IV con las principales conclusiones resultantes de los trabajos realizados, referentes a los efectos de los residuos orgánicos y a las metodologías utilizadas, y se avanzan perspectivas posibles en más investigaciones.

I. Revisión bibliográfica

1. Materia orgánica del suelo

Actualmente, la comunidad científica reconoce que la materia orgánica (MO) es el principal factor que controla las propiedades del suelo y los principales ciclos biogeoquímicos. Sin embargo, la construcción del concepto de MO del suelo ha sufrido cambios a lo largo del tiempo. Manlay et al. (2007) describen la relación entre la MO del suelo y la sostenibilidad de los sistemas de cultivo en tres periodos históricos (húmico, mineralista y ecológico), descritos a continuación.

Hasta 1840, en el periodo definido como húmico, se creía que las plantas se alimentaban del humus extraído directamente del suelo. Los registros históricos muestran que todas las culturas antiguas basaban el mantenimiento de la fertilidad de los suelos cultivados en los aportes periódicos de materiales orgánicos procedentes de diferentes orígenes (restos forestales, excrementos, cadáveres, residuos de cosechas más o menos transformados, etc.).

Entre 1840 y 1940, catalogado de periodo mineralista, las prácticas orgánicas se fueron sustituyendo por la fertilización mineral intensiva. Este cambio se produjo a partir del momento en que se enuncia la teoría de la nutrición mineral propuesta por Liebig (1803-1873), por el abandono progresivo del reciclado de nutrientes entre las ciudades y el campo y por el auge de la industria de fertilizantes. Sin embargo, los fertilizantes minerales no aportan MO al suelo, cuya producción se realiza por la acción lenta de los microorganismos y tarda centenas de años en formarse. Además, para elaborar fertilizantes minerales se necesita energía y se recurre a la extracción de materias-primas. La evaluación del coste ambiental de la intensificación en las prácticas agrícolas modernas, los avances científicos en la caracterización del papel del humus como componente del ecosistema, y las investigaciones sobre el potencial de la MO del suelo como sumidero de carbono (C) para mitigar el efecto de invernadero, han originado el tercer periodo. En este periodo, que va desde 1940 hasta la actualidad, la MO del suelo se viene reconociendo como un sistema bio-órgano-mineral complejo, y como indicador de la calidad del suelo y de la fertilidad de los agro-ecosistemas (Reeves, 1997).

En los últimos años, además de su papel como un compartimento clave en los ciclos de nutrientes y como regulador del cambio climático (Lal, 2004), la MO del suelo ha empezado a ser valorada también por su influencia en una gran variedad de servicios ecológicos (*ecosystem services*). Según Manlay et al. (2007), este concepto corresponde al periodo

ecológico. Estos servicios ecológicos incluyen la disponibilidad y calidad del agua, la erosionabilidad del suelo, y la utilización de la MO como fuente de energía para los organismos del suelo (Lal, 2004; Swift et al., 2004).

2. Residuos orgánicos biodegradables

Según el Real Decreto 842/2005 (BOE, 2005) sobre productos fertilizantes, se define residuo orgánico biodegradable (ROB) a todo residuo o subproducto de origen vegetal o animal utilizado como materia prima susceptible de ser transformado por la acción de microorganismos aerobios o anaerobios y dar lugar a un tipo de enmienda orgánica.

De una forma simplista, es frecuente considerar tres fuentes principales de residuos orgánicos: i) la actividades agrícola y forestal, ii) la actividad urbana y iii) la actividad industrial. Los ROB originados por las actividades agrícolas y forestales incluyen, entre otros, purines, estiércoles y restos de los cultivos, desechos de poda y desechos del mantenimiento de las masas forestales. La actividad urbana produce residuos sólidos urbanos (basura) y lodos provenientes de las estaciones de tratamiento de aguas residuales. Las industrias generan ROB que incluyen los subproductos de las industrias agro-alimentarias (bagazos, borras de café, residuos de mataderos, subproductos de las industrias de frutas y legumbres, sueros de leche, etc.), desechos de lana y de piel, lodos de celulosa, entre otros.

2.1. Ventajas de su valorización agrícola

Los residuos orgánicos se contemplan cada día más, no sólo como un problema ambiental, sino como un recurso económico potencial, cuya recuperación puede conllevar importantes beneficios, designadamente para los agro-sistemas. Este cambio de paradigma está impulsado en parte por la legislación y en parte por las fuerzas del mercado. El reciclaje de estos residuos orgánicos a través de su incorporación en los suelos agrícolas y/o forestales, propuesto inicialmente por la Directiva marco relativa a residuos 75/442/CEE (Consejo Europeo, 1975), actualmente modificada por la Directiva 2006/12/CE (Consejo Europeo, 2006), es una de las vías aconsejadas para su eliminación, pues a la vez que el residuo es eliminado de forma económica, los suelos receptores se benefician de un aporte de MO y nutrientes.

De entre las ventajas de aplicar residuos orgánicos al suelo destacan la mejora de las propiedades físicas, químicas y biológicas y el aspecto ambiental.

Mejora de las propiedades físicas

Cuando son aplicados en el suelo, estos residuos van a incrementar el contenido de humus, aumentando la capacidad de retención de agua y mejorando la estructura del suelo, factor fundamental para la penetración de la raíces, para un drenaje adecuado y para favorecer la aireación (ej. Haynes y Naidu, 1998). Esto es especialmente importante si se considera que muchos suelos en Europa, sobre todo en el sudoeste, tienen niveles de C orgánico inferiores al 2 % (Zdruli et al., 2004). La valorización agrícola, u otro uso en los suelos, de los residuos orgánicos contribuyen por una parte a luchar contra la degradación del suelo, y por otra para potenciar la estabilización del C orgánico de los suelos (Gregorich et al., 2001).

Mejoría de las propiedades químicas y biológicas

Además, los residuos orgánicos son una fuente importante de nutrientes y su aplicación al suelo permite cerrar el ciclo de nutrientes (Petersen et al., 2003; Antolín et al., 2005).

En zonas agrícolas cuyos suelos no estén limitados por el contenido de MO, como puede ser el caso de Galicia (López-Arias y Grau-Corbí, 2004), los residuos orgánicos pueden contribuir a paliar otros efectos adversos en el suelo, como es la acidez. Diversos estudios indican que estos residuos orgánicos cuando son aplicados en suelos ácidos pueden ser efectivos en la neutralización de la acidez (Hue y Licudine, 1999; Materechera y Mkhabela, 2002) y este efecto está asociado a incrementos en la productividad de cultivos forrajeros (ej. Hue, 1992; Naramabyue et al., 2008).

La fertilización con residuos orgánicos también produce el incremento de la actividad de los microorganismos del suelo, que a su vez mejora la disponibilidad de nutrientes para las plantas (Marinari et al., 2000). En el apartado 3.2.4. de este capítulo se profundiza sobre el efecto de la aplicación de este tipo de residuos en la fauna del suelo.

Aspectos ambientales

La aplicación de residuos orgánicos al suelo permite el ahorro energético y de materias primas necesarias para la fabricación de fertilizantes químicos. Además, también permite la reducción del efecto de invernadero. Lal (2004) incluye la aplicación de residuos orgánicos en las prácticas de manejo relacionadas con el secuestro de C del suelo. Petersen et al. (2006) y Küstermann et al. (2008) han observado que los sistemas de agricultura ecológica producen menos emisiones de gases de efecto de invernadero que los sistemas convencionales. Según los últimos autores citados, el incremento del nitrógeno (N) mineral y de los insumos de energía incrementan las emisiones de N_2O y CO_2 . Para más información sobre prácticas agrícolas capaces de mitigar las emisiones de gases de efecto de invernadero se recomienda la lectura de los trabajos de Johnson et al. (2007) y Smith et al. (2008).

2.2. Tipos de residuos orgánicos biodegradables

A continuación se hará una breve descripción de diferentes tipos de ROB haciendo énfasis en los residuos utilizados en los ensayos recogidos en esta memoria y su importancia como fertilizante en el medio rural gallego: el purín de vacuno, el estiércol de pollos de engorde y los lodos de depuradora de industria láctea.

En la Tabla I-1 se presentan las cantidades totales de deyecciones por especies que se han producido en Galicia y España, según el Censo y Producciones Ganaderas en el año 2003. En España la mayor cantidad de deyecciones es producida en explotaciones de bovino, porcino y ovino. En Galicia, es en las explotaciones de bovinos, seguidas de las explotaciones de porcino y de aves donde se producen más deyecciones.

Las características de los desechos producidos por cada especie se presentan en la Tabla I-2. En general los desechos de las especies ganaderas tienen buenos niveles de MO y de nutrientes minerales. El N se presenta en forma orgánica y amoniacal, siendo la última más elevada para los gallináceos y porcinos; el potasio (K) se encuentra en forma de sales de elevada solubilidad provenientes de la orina; el fósforo (P) está sobre todo en forma orgánica.

2.2.1. Estiércoles

Los estiércoles son excrementos de animales mezclados con diferentes residuos (paja de cereales, virutas de madera, serrín, cascarilla de arroz, etc.), que se utilizan como cama de los animales. Esta mezcla está, por tanto, constituida por materiales ricos en N (orina y excrementos), y productos muy ricos en C, con alto contenido en celulosa y lignina.

Tabla I-1. Producción de deyecciones animales en Galicia y España en 2003.

Especie	España Ton x 10 ³	Galicia Ton x 10 ³	Galicia %
Bovino	42085,3	6909,6	16,4
Ovino	12128,2	98,8	0,8
Caprino	1458,4	18,7	1,3
Porcino	25242,0	907,2	3,6
Equino	2637,8	242,5	9,2
Aves	7695,4	712,7	9,3
Conejos	407,2	85,7	21,0
Total	91654,3	8975,1	9,8

Fuente: MAPA (2005)

Estiércol de pollo de engorde

La producción en Galicia de estiércol fresco de pollo y otras aves alcanza aproximadamente unas $7,13 \cdot 10^3$ ton año⁻¹, lo que corresponde a aproximadamente al 8% de la producción total de deyecciones animales (MAPA, 2005).

El estiércol de pollos de engorde o gallinaza sólida, es el producto resultante de la fermentación de los excrementos de pollo con una cama que suele ser un material lignocelulósico, como pueden ser la paja, el serrín o la cáscara de arroz. El estiércol de gallinaza sólida es un abono orgánico de alto contenido en nutrientes y con un bajo grado de humedad. Es utilizado habitualmente como abono y enmienda orgánica en cultivos de gran importancia económica como el maíz, la soja, las praderas y los cultivos hortícolas (Evers, 2002).

Por otro lado, la gallinaza sólida contiene sesenta y tres millones de microorganismos por gramo de gallinaza seca que participan activamente en el ciclo de los elementos, aumentando las enzimas y metabolitos microbianos, lo que puede favorecer la estimulación de sustancias

de acción fitohormonal, al mismo tiempo que se producen vitaminas (Díaz-Burgos et al., 1993).

El estiércol de pollo, por presentar un contenido superior de materia seca, es más rico en MO y nutrientes que otras clases de estiércol. En la Tabla I-2 se muestra la riqueza superior en N, P y K del estiércol fresco de pollo frente al de ganado ovino, porcino y vacuno.

Tabla I-2. Composición en N, P₂O₅ y K₂O de diferentes deyecciones en Galicia.

Tipo de deyección	Composición (%)		
	% N	% P ₂ O ₅	% K ₂ O
<u>Vacuno</u>			
Sólidas	0,35	0,28	0,22
Orina	0,70	0,01	1,5-2
Purín ¹	0,3-0,4	0,15	0,45-0,6
<u>Equino</u>			
Sólidas	0,50	0,35	0,30
Orina	1,20	-	1,50
<u>Porcino</u>			
Sólidas	0,60	0,45	0,50
Orina	0,30	0,12	0,20
<u>Ovino</u>			
Sólidas	0,75	0,60	0,30
Orina	1,40	0,05	1,90
<u>Aves</u>			
Deyecciones de gallina	1,40	1,00	0,60
Deyecciones de pato	0,80	0,50	0,70

¹ % MS = 6% (Castro, 2002). Fuente: Xunta de Galicia (1999).

2.2.2. Purines

El purín resulta de la fermentación, predominantemente anaeróbica, de las deyecciones de animales con aguas provenientes del lavado de las instalaciones ganaderas y de la lluvia, si las fosas son abiertas.

La cantidad de purines producidos anualmente en las explotaciones por unidad animal depende del tipo de ganado y de explotación. La composición de los purines es muy

heterogénea y depende de la especie, de la edad del animal, del tipo de alimentación, de los métodos de limpieza y del estado sanitario y fisiológico.

Según datos del Centro de Investigaciones Agrarias de Galicia, gran parte del purín de vacuno producido en esta comunidad tiene un porcentaje de materia seca muy bajo (inferior al 6%), lo que puede dificultar su manejo (Castro, 2002). El contenido en P se considera bastante alto, por lo que se recomienda no aportar este nutriente en forma química (Castro y Mateo, 1999).

2.2.3. Lodos de depuradora

En la Directiva 86/278/CEE del Consejo de 12 de junio de 1986 (Consejo Europeo, 1986) relativa a la protección del medio ambiente y, en particular, de los suelos, en la utilización de los lodos de depuradora en agricultura, se entiende por lodos: i) los lodos residuales procedentes de estaciones de depuración que traten aguas residuales domésticas o urbanas y de otras estaciones de depuración que traten aguas residuales de composición similar a la de las aguas residuales domésticas y urbanas; ii) los lodos residuales de fosas sépticas y de otras instalaciones similares para el tratamiento de aguas residuales; iii) los lodos residuales procedentes de estaciones de depuración distintas de las contempladas en i) y ii).

Según datos de un informe de la comisión (Comisión Europea, 2006), la mayoría de los Estados miembros de EU-15 registró un aumento de la generación de lodos durante el período 2001-2003. Los nuevos Estados miembros comunicaron datos con valores crecientes. Por lo que se refiere a la utilización de lodos en agricultura, siete Estados miembros, incluyendo a España, señalan que el 50 %, o más, de los lodos que generan lo aplican sobre tierras.

En España, los datos del Registro Nacional de Lodos del MAPA¹ (actual MARM²), indican que en el año 2006 se generaron 1065 10³ ton de lodos (materia seca-MS-), por lo que la producción de lodos se ha incrementado un 55 % en el periodo 1997-2006. Según datos presentados en el Plan Nacional Integrado de Residuos (2008), las cantidades destinadas a valorización agrícola en los últimos años pasaron, de 606 10³ ton (MS) en 2001 a 687 10³ ton (MS) en 2006, lo que significa, en términos porcentuales, un notable incremento. En el año 2006 alrededor del 65 % de los lodos se destinaron a los suelos agrícolas y el resto, en su mayor parte, se depositaron en vertederos o se incineraron.

¹ Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

² Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.

La mayoría de los estudios sobre lodos de depuradora se refieren a los lodos procedentes de estaciones depuradoras de aguas residuales de núcleos urbanos, por ser los que generan mayores volúmenes.

Lodos de depuradora de industrias lácteas

En la elaboración o transformación de productos agro-alimentarios normalmente se consume gran cantidad de agua para el lavado de las instalaciones. Frecuentemente, los productos utilizados en estos lavados se encuentran después en los efluentes (soluciones ácidas, soluciones básicas, soluciones detergentes, etc.). De una manera general, los efluentes de las industrias agro-alimentarias son fácilmente biodegradables y sin tóxicos (contaminantes orgánicos, metales pesados) lo que hace que se puedan tratar fácilmente por vías biológicas y principalmente microbiológicas (Moletta, 2006).

En Galicia los lodos generados por las industrias lácteas ganan importancia, puesto que en esta comunidad autónoma se produce cerca del 40 % del total de la leche nacional (MARM, 2008a) (Tabla I-3).

Tabla I-3. Producción de leche en Galicia y en España según especies en 2007.

	Vaca	Oveja	Cabra	Total
	L x 10 ³	L x 10 ³	L x 10 ³	Lx10 ³
Galicia	2.300.838	-	-	2.300.838
España	6.158.179	414.211	488.746	7.061.136

Fuente: MARM (2008a).

Estos lodos proceden de la depuración de las aguas residuales compuestas por restos de leche (debido a pérdidas durante el proceso) y soluciones de limpieza compuestas por agua, hidróxido sódico y ácido nítrico. El proceso de reciclado de las aguas residuales se puede llevar a cabo en un ciclo cerrado, de tal manera que los lodos generados tras la depuración, sean utilizados por los agricultores de zonas próximas a la industria para fertilizar las praderas. El forraje producido se emplea para la alimentación del ganado vacuno, que a su vez produce la leche que vuelve a la industria láctea inicial.

En general, la mayoría de las investigaciones sobre lodos se refieren a lodos procedentes de estaciones depuradoras de aguas residuales urbanas, aunque en Francia los trabajos realizados con lodos de industria láctea se remontan a la década de los setenta (Gras y Morisot, 1974), debido al elevado volumen de leche que este país genera. También en Australia, algunos programas nacionales intentan impulsar un tratamiento legislativo distinto para los lodos provenientes del tratamiento de efluentes de las industrias lácteas, pues los metales pesados y contaminantes químicos están presentes en concentraciones mucho menores que en los lodos de depuradora urbana (Bertsch, 2000; Issa et al., 2007). En Galicia, la investigación con lodos de depuradora de industria láctea comenzó hace una década. López-Mosquera et al. (2001) y Sainz et al. (2006) han determinado la dosis de aplicación al suelo de praderas y las consecuencias en la producción de forraje. En suelos ácidos y bajo diferentes usos, López-Mosquera et al. (2005) concluyeron que las concentraciones totales de metales pesados fueron insuficientes para causar riesgo ambiental.

2.3. Riesgos de contaminación

En los últimos años, el aumento de la población y la mejora del nivel de vida han llevado a un incremento en el consumo de carne y productos lácteos y consecuentemente a la intensificación de la producción ganadera y de las agro-industrias asociadas. Esto ha provocado una acumulación de purines, de estiércoles y de lodos y el agravamiento de problemas asociados a su almacenamiento y a su aplicación.

Problemas en el almacenamiento

Como la mayor parte de los compuestos orgánicos que forman parte de este tipo de residuos son fácilmente biodegradables, estos inician rápidamente su descomposición y en condiciones anaerobias pueden originar daños ambientales. La volatilización del N por amonificación supone pérdidas del contenido de N del residuo y contribuye a la acidificación de la atmósfera y, por tanto, de los suelos y aguas a través de la lluvia ácida. Paralelamente, la fermentación anaerobia de la MO origina la emisión de metano y óxidos de N, gases con importante efecto invernadero (Schils et al., 2008). Otro problema provocado por la intensificación ganadera

son los malos olores, cuyos compuestos responsables, una gran parte azufrados (Westerman y Bicudo, 2005), tienen fundamentalmente su origen en los procesos de degradación anaerobia.

Problemas en la aplicación

La aplicación de residuos orgánicos en los suelos puede incrementar la cantidad de moléculas orgánicas más o menos complejas (como compuestos bifenilos policlorados -PCB-) que pueden causar graves problemas de contaminación convirtiendo el suelo en un sumidero y fuente de contaminantes.

Además, los residuos orgánicos pueden ser fuente de metales pesados y de patógenos (virus y bacterias) que pueden transmitirse a través de las aguas o a la atmósfera (Venglovsky et al., 2006). Designadamente, los purines de porcino y aves pueden contener niveles elevados de metales pesados, debido a los piensos y antibióticos utilizados (Flynn et al., 1995; El Nadi et al., 1995; Sengeløv et al., 2003). Entre los patógenos, las bacterias de los géneros *Salmonella*, *Clostridium*, *Brucella*, *Streptococcus*, *Escherichia*, *Mycobacterium*, *Yersinia*, *Listeria*, *Campylobacter*, *Bacillus*, los protozoos del género *Criptosporidium*, *Eimeria* y *Toxoplasma*, y algunos virus son los más preocupantes (Burton y Turner, 2003).

El impacto sobre las aguas puede ser provocado por vertido directo a los cauces o mediante la contaminación de las aguas subterráneas debido al lavado o a un exceso de aplicación al suelo, que origina un enriquecimiento en nutrientes de las aguas (sobre todo en N y P), lo que desencadena la eutrofización. La proliferación de algas y otros microorganismos provoca un aumento de la carga orgánica de las aguas y una disminución del oxígeno disponible, reduciendo su calidad y llevando a la muerte a plantas y animales acuáticos (Smith et al., 2000). Además, se induce una pérdida de calidad de las aguas para el consumo humano, fundamentalmente debido al exceso de nitratos que puede causar problemas sanitarios graves.

Estas y otras situaciones de contaminación asociadas a un manejo incorrecto pueden provocar la degradación del medio y afectar a la salud humana y animal (Kloepper-Sams et al., 1996; Jensen, 1999).

2.4. Tratamiento de residuos orgánicos

2.4.1. De estiércoles y purines

Es frecuente recurrir al tratamiento de estiércoles y purines con el objetivo de reducir los malos olores y el volumen de residuos, eliminar patógenos y semillas de propágulos de malas hierbas, y para estabilizar la MO antes de su aplicación en el suelo. En las explotaciones ganaderas los métodos recomendados son la separación sólidos-líquidos y los métodos biológicos, que incluyen el compostaje y la digestión anaerobia (Gonçalves, 2005).

Separación de sólidos y líquidos

La separación de los componentes sólidos y líquidos del purín posibilita la obtención de una fase líquida, con un menor potencial contaminante (respecto al N y P, a la demanda bioquímica de oxígeno y a los patógenos), que se puede utilizar para riego, limpieza de establos o para ser inyectada en el suelo. Además, facilita la valorización de la fase sólida a través del compostaje o de otros tratamientos; y contribuye a la reducción de malos olores y de emisión de gases tóxicos (Burton, 2007).

Compostaje

Según el Real Decreto 824/2005, de 8 de julio, sobre productos fertilizantes (BOE, 2005), el compostaje es un proceso de transformación biológica aeróbica y termófila de materiales orgánicos biodegradables que ocurre bajo condiciones controladas y que da lugar a distintos tipos de enmiendas orgánicas (compost).

Digestión anaerobia

La fermentación anaerobia, o digestión anaeróbica, es un proceso biológico de tratamiento realizado en ausencia de oxígeno. Con este tratamiento, aparte de reducirse la carga contaminante del residuo, se obtiene biogás (metano y dióxido de carbono), que puede emplearse como fuente energética. De este proceso resulta también un material digerido (digestato) con alguna estabilidad que puede ser compostado o sometido a secado térmico, lo que permite reducir el volumen de agua y abaratar los costes de transporte. Sin embargo,

cuanto más elevado sea el grado de tecnificación mayor será el coste de inversión y de mantenimiento (Westerman y Bicudo, 2005).

2.4.2. De lodos de depuradora

En el caso de los lodos, el elevado porcentaje de humedad dificulta el transporte y la aplicación en el suelo y su falta de estabilidad puede afectar negativamente a los cultivos, transmitir patógenos y causar malos olores (Venglovsky et al., 2006). Para evitar estos problemas las depuradoras disponen de tecnologías que permiten aplicar los siguientes tratamientos: estabilización, reducción del volumen o espesamiento y deshidratación. En algunos casos se realiza la higienización y desinfección de los lodos.

Estabilización

Para estabilizar los lodos se recurre a procesos microbiológicos (aeróbicos o anaeróbicos) o a procesos químicos. La estabilización por vía aeróbica se realiza a través de una aireación prolongada de los lodos para que ocurran las condiciones necesarias al desarrollo y actuación de los microorganismos aerobios que descomponen la fracción fácilmente biodegradable de la MO. Esta descomposición también se puede conseguir por vía anaeróbica, realizada en digestores y sin oxígeno (Appels et al., 2008). En este proceso se produce metano que puede emplearse como fuente de energía. Con la estabilización química se consigue inactivar los microorganismos responsables de los malos olores a través del pH inducido por la adición de una base.

Higienización

La higienización y desinfección de los lodos se consigue empleando los siguientes tratamientos: i) pasteurización, ii) tratamiento biológico termófilo aeróbico o anaeróbico, iii) incorporación de hidróxido cálcico o iv) compostaje. Para una revisión más extensa sobre los métodos de higienización de residuos orgánicos se puede consultar Venglovsky et al. (2006).

En el tratamiento de los lodos de depuradora tienen lugar varios procesos, a veces innecesarios e incluso perjudiciales desde el punto de vista ambiental. Por este motivo, un

objetivo del II Plan de Lodos (MARM, 2008b) consiste en precisar los tratamientos realmente necesarios para optimizar la valorización de los lodos de depuradora. Las medidas que se adopten en este sentido propiciarán e incentivarán una mejor gestión, su abaratamiento, la minimización del consumo de energía procedente de fuente no renovable y la aplicación del principio de proximidad según el cual es aconsejable evitar, en lo posible, el transporte de lodos de depuradora a grandes distancias y ello por la doble razón del impacto ambiental de esa operación y el encarecimiento de la gestión que ello significa. Lo mismo se discute respecto al manejo de los purines y de los estiércoles (López-Ridaura et al., 2008).

2.5. Legislación aplicable

La Directiva 2006/12/CE del Consejo de 5 de abril de 2006 (Consejo Europeo, 2006) relativa a los residuos contiene las principales definiciones y principios que rigen la gestión de residuos. El artículo 4 especifica que la valorización y eliminación de los residuos debe ser realizada “sin poner en peligro la salud del hombre y sin utilizar procedimientos ni métodos que puedan perjudicar el medioambiente y, en particular: i) sin crear riesgos para el agua, el aire o el suelo, ni para la fauna y la flora; ii) sin provocar incomodidades por el ruido o los olores; iii) sin atentar contra los paisajes y los lugares de especial interés”. También refiere que “los Estados miembros adoptarán las medidas necesarias para prohibir el abandono, el vertido y la eliminación incontrolada de residuos”.

Sin embargo, por su naturaleza tan genérica, esta legislación “horizontal” no puede tener en cuenta los aspectos específicos de todas las operaciones de gestión ni de todos los materiales residuales. Por lo tanto, se complementa con legislación más detallada.

Debido a los riesgos asociados a la utilización agrícola de residuos orgánicos, se vienen produciendo documentos legislativos y normativos, reglamentos y códigos de buenas prácticas que promueven la reducción y la valorización de estos residuos, incluyendo los diversos componentes de su manejo, desde la producción y procesamiento hasta su utilización en la agricultura, de manera que la calidad de los suelos, aguas subterráneas y superficiales y la salud humana y animal estén protegidas.

Las cantidades de residuos orgánicos aplicados en los suelos agrícolas están, de una manera general, definidas en base a los contenidos de nutrientes del residuo y a las necesidades

nutritivas de los cultivos. Además, existen algunos criterios de protección ambiental para garantizar una calidad mínima de los residuos antes de su aplicación para asegurar su uso sustentado a largo plazo, pero la calidad depende exclusivamente del contenido total de contaminantes.

A la vez, la directiva 91/676/CE (Consejo Europeo, 1991) para la protección de las aguas contra la polución provocada por los nitratos de origen agrícola también limita la utilización de los residuos orgánicos en los suelos agrícolas. En España la aplicación de fuentes de N en la agricultura esta reglamentada por el Real Decreto 261/1996 (BOE, 1996).

La cada vez mayor aparición de nuevos productos que contienen nutrientes para las plantas y capacidad fertilizante ha llevado a que la Unión Europea reglamente la utilización de nuevos ingredientes en la elaboración de productos fertilizantes, de modo que eviten sus posibles efectos nocivos en la salud y seguridad de las personas y del medio ambiente a través del Reglamento (CE) 2003/2003 (Consejo Europeo, 2003). En España, la transposición de este reglamento se hizo a través del Real Decreto 824/2005 (BOE, 2005), que pretende, en primer lugar, concretar algunas de las disposiciones del Reglamento (CE) 2003/2003, respecto de las que dicha norma establece que deben ser desarrolladas y completadas por los Estados miembros, y en segundo lugar, refundir y actualizar la normativa nacional existente relativa al resto de los abonos y a todo tipo de enmiendas, adaptándola, en su caso, a las exigencias del Reglamento (CE) 1774/2002 (Consejo Europeo, 2002). El Consejo Europeo ha fijado restricciones para los materiales de origen animal que se utilicen para elaborar abonos o enmiendas orgánicas, así como una serie de medidas que obligan a los Estados miembros a garantizar que dichos materiales no contribuyan a la difusión de enfermedades.

La utilización de lodos en agricultura está regulada por una legislación propia, la Directiva 86/278/EEC (Consejo Europeo, 1986), que contempla la estabilización de los lodos primarios y presenta los valores límite de metales pesados en los lodos y en los suelos receptores. Esta Directiva se incorporó a la legislación española mediante el Real Decreto 1310/1990 (BOE, 1990), en él se designa al MAPA y a las autoridades responsables de las Comunidades Autónomas (CCAA) en esta misma materia como los competentes en materia de aplicación y control de la citada Directiva. Una Orden posterior, la de 26 de octubre de 1993, sobre la utilización de lodos de depuradora en agricultura, establece las exigencias de suministro de información de la estación depuradora al inicio de su funcionamiento y el envío por el

responsable de la depuradora de una ficha semestral, elaborada por la entidad que gestiona los lodos de uso agrícola, con las cantidades dedicadas a fines agronómicos. La Comisión Europea ha incluido en la Estrategia de Prevención y Reciclaje el compromiso de presentar una propuesta de revisión de la Directiva 86/278/CEE, cuyo contenido y orientación, previsto para el 2007, no se conoce todavía (*Working document on Sludge- 3rd Draft*). En España, en junio de 2001 se aprobó el I Plan Nacional de Lodos de Depuradora- EDAR 2001-2006 (I PNLD) (BOE, 2001). Actualmente esta disponible un II PNLD para el periodo 2008-2015 en el Anexo V de la versión preliminar del Plan Nacional Integrado de Residuos (PNIR) (MARM, 2008b), que busca una clarificación competencial en materia de gestión de lodos y el desarrollo de una norma y guías para establecer unas pautas claras para la gestión con independencia de si el destino es el uso en el suelo o no. También se busca profundizar en la selección de los tratamientos adecuados al destino previsto.

Considerando la gran variedad de residuos y que cada suelo tiene una capacidad y sensibilidad específica a los posibles riesgos por ellos acarreados, se critica el hecho de que la legislación vigente en este campo esté limitada por determinadas analíticas químicas (Moreira et al., 2008; Domene et al., 2008). Se propone que en los programas de manejo de un determinado residuo, su efecto en el suelo sea cuantificado por parámetros específicos que puedan presentar los suelos receptores y cuya alteración pueda llevar a un deterioro o a una mejora de su calidad. Además, se debe tener presente que la capacidad amortiguadora de los suelos no permite detectar consecuencias negativas de exposición a un contaminante antes de que se produzca la saturación y también la poca o nula información existente sobre algunos agentes contaminantes y patógenos. Por estos motivos, algunos autores proponen que los análisis químicos sean complementados con la evaluación de otro tipo de parámetros que permitan obtener información sobre la fracción biodisponible de contaminantes y que integren el efecto de otros contaminantes muchas veces desconocidos (Pandard et al., 2006). De esta manera será posible evaluar el efecto del residuo en la calidad del suelo, en su sentido más lato (vease el apartado 4. incluido en este capítulo).

3. La fauna del suelo

3.1. Características generales

Los organismos vivos del suelo incluyen las bacterias, los hongos, las algas, las raíces y la fauna del suelo. La fauna del suelo engloba casi todos los filo o divisiones (platelmintos, nematodos, rotíferos y tardígrados, anélidos, moluscos, artrópodos y cordados) y su actividad es absolutamente crucial para su funcionamiento. Según la talla y la función de los organismos que constituyen la fauna del suelo, ésta se puede dividir en microfauna, mesofauna, macrofauna y megafauna. También se pueden clasificar, entre otros parámetros, según su estratificación vertical en hiperedáfica (comunidad de la vegetación base), epiedáfica (ocupa los horizontes OL, OF, OH y S), hemiedáfica (corresponde al horizonte A) y eudáfica (en profundidad corresponde a los horizontes S, B, C y D) (Swift, 1979).

Los organismos que componen la fauna del suelo descomponen el material orgánico y forman MO, participan en el ciclo de nutrientes y en su mineralización, degradan contaminantes, realizan control biológico de plagas, contribuyen a la formación de la estructura del suelo y regulan la fijación y liberación de CO₂ y otros gases con efecto de invernadero (Benckiser, 1997; Coleman et al., 2004; Osler y Sommerkorn, 2007).

3.2. Prácticas agrícolas que amenazan a la fauna del suelo

Existen numerosos trabajos sobre el efecto de las prácticas antropogénicas sobre la fauna del suelo. Dentro de las prácticas agrícolas que reflejan la intensificación de la agricultura, se pueden incluir las modificaciones en el uso del suelo, el tipo de laboreo, el uso de pesticidas, el manejo de fertilizantes y la gestión del agua (riego o drenaje). Estas prácticas, provocan una alteración en el hábitat y en la disponibilidad de alimento para la fauna, pudiendo provocar cambios en la abundancia de especies (Rossi y Blanchart, 2005).

3.2.1. Cambio en el uso del suelo

Ponge et al. (2003) han estudiado el efecto del cambio en el uso del suelo utilizando poblaciones de colémbolos y han observado una influencia negativa de la rápida forestación de un suelo agrícola, que no ha dado tiempo para el desarrollo de comunidades de fauna del

suelo mejor adaptadas. Por otro lado, Callaham et al. (2006) han observado, en dos años de experimento, que diferentes usos del suelo han influido profundamente en la comunidad de invertebrados y las perturbaciones más intensas (cultivo intensivo de algodón) han originado una comunidad de invertebrados menos diversa compuesta de pocos taxones, frecuentemente no nativos, tolerantes a la perturbación. Perner y Malt (2003), han evaluado el efecto de la alteración del uso del suelo en las poblaciones de coleópteros y de arañas y proponen la monitorización de estos dos grupos taxonómicos en procesos agrícolas de restablecimiento.

3.2.2. Laboreo

Hendrix et al. (1986) han demostrado que con el laboreo se producen modificaciones de la estructura de las redes tróficas asociadas al suelo, así como en la composición y la diversidad de las comunidades de artrópodos, aunque la dirección de estos efectos sea específica de cada caso. De Aquino et al. (2008) han observado que los sistemas sin laboreo representan agrosistemas ecológicamente más complejos que los sistemas convencionales, lo que ha permitido incrementar la abundancia de depredadores. En el caso concreto de las poblaciones de carábidos, Belaoussoff et al. (2003), aplicando índices de diversidad, no han observado modificaciones en la misma con el incremento del laboreo.

3.2.3. Aplicación de herbicidas

La aplicación de herbicidas también puede ejercer efectos en la fauna del suelo, tanto por respuestas a efectos indirectos (por ejemplo, pérdida de cubierta de malas hierbas después de la aplicación de herbicidas) (Wardle et al., 1999) como a efectos directos provocados por el producto químico utilizado (Volkmar y Freir, 2003; Capowiez et al., 2005).

3.2.4. Fertilización

La respuesta de la fauna del suelo a la aplicación de fertilizantes es variable. Generalmente los efectos de la aplicación de dosis moderadas son positivos, originando modificaciones en las condiciones microclimáticas o en la disponibilidad de recursos.

Oliver et al. (2005), evaluando el efecto de la fertilización y del pastoreo en las comunidades de artrópodos de prados nativos en Australia, han observado un incremento en la abundancia relativa de ácaros y colémbolos y modificaciones en las comunidades de hormigas y coleópteros después de la utilización de superfosfato. Sin embargo, la aplicación de superfosfato ha disminuido la abundancia de especies nativas y ha incrementado la dominancia de especies introducidas.

En relación a la fertilización con residuos orgánicos, se considera que, por aportar alimento adicional, tener efecto acolchado y estimular el crecimiento de los cultivos y el retorno del los restos vegetales, resulta beneficiosos para la fauna del suelo.

Comparando la agricultura convencional con la agricultura ecológica, Birkhoefer et al. (2008a) han concluido que la fertilización con estiércol fomenta la presencia de enemigos naturales y “ingenieros del ecosistema”³ mejorando el ciclo de nutrientes y el control de plagas. Lo mismo ha sido observado por Forge et al. (2005) utilizando estiércol y purín. Sin embargo, Diez et al. (2001) han observado efectos ecotoxicológicos crónicos en colémbolos sometidos a aplicaciones de purín de cerdo.

Diversos trabajos relatan el efecto benéfico de la aplicación de lodos de depuradora urbana para lombrices y colémbolos (Tomlin et al., 1993; Andrés, 1999). En experimentos de campo, Krogh y Pedersen (1997) y Petersen et al. (2003), han demostrado la estimulación de la biota del suelo cuando se aplican lodos. Sin embargo se han encontrado efectos perjudiciales en experimentos de laboratorio (Krogh et al., 1997; Andrés y Domene, 2005) relacionados con su contenido en metales pesados o con la falta de estabilización del residuo.

4. Indicadores de calidad del suelo

No existe consenso claro relativo a la definición de calidad del suelo. Según Doran y Parkin (1994), la calidad del suelo es su capacidad para funcionar, dentro de los límites del ecosistema, para sostener la productividad biológica, mantener la calidad ambiental y promover la salud de las plantas, de los animales y del hombre. En este sentido, la calidad del

³ Los “ingenieros del ecosistema” son organismos que modulan directa o indirectamente la disponibilidad de recursos para otras especies, debido a su capacidad de moverse a través del suelo y de construir estructuras organo-minerales (estructuras biogénicas) con propiedades físicas, químicas y biológicas específicas (Jones et al., 1994; Lavelle et al., 1997). Las lombrices, las termitas y las hormigas son considerados los ingenieros del ecosistema más importantes.

suelo deberá englobar la calidad física, química y biológica, cuyas definiciones, según Abbott y Murphy (2003), se exponen a continuación.

La calidad física aborda la capacidad del suelo para proporcionar un medio adecuado a la germinación de semillas y al óptimo desarrollo del sistema radicular sin originar pérdidas de estructura o erosión y favoreciendo los procesos químicos y biológicos del suelo.

La calidad química del suelo es la capacidad para proporcionar los nutrientes necesarios al crecimiento de los cultivos favoreciendo los procesos físicos y biológicos, incluyendo los involucrados en el ciclo de nutrientes.

La calidad biológica es la capacidad de los organismos que viven en el suelo para contribuir a las necesidades nutricionales de las plantas, mientras mantiene los procesos biológicos que contribuyen de manera positiva al estado físico y químico del suelo.

Aunque no haya consenso en la definición de calidad del suelo, se considera que su manutención es fundamental para asegurar la sustentabilidad del medio y de la biosfera (Arshad y Martin, 2002).

Para que se puedan evaluar los efectos de las prácticas agrícolas en la calidad del suelo, es necesario cuantificarlos. Las actuales tentativas se basan en la identificación de parámetros específicos medibles que deben ser sensibles a cambios en el manejo del suelo, a las perturbaciones y a las entradas en el sistema, denominados indicadores de calidad del suelo (Doran y Parkin, 1996).

4.1. Principales tipos de indicadores

Los indicadores de calidad del suelo son propiedades cuantificables que influyen en la capacidad del suelo para llevar a cabo una determinada función. Deben cumplir los siguientes requisitos (Doran y Parkin, 1996): i) sensibilidad a los cambios en el suelo que ocurren como resultado de la degradación antropogénica; ii) elevada correlación con los procesos del ecosistema; iii) integración de propiedades y procesos físicos, químicos y biológicos del suelo y servir para estimar las propiedades o funciones difíciles de medir; iv) tener bajo coste; v) proporcionar una respuesta corta en el tiempo y vi) ser factibles de interpretación tanto por especialistas como por productores y legisladores.

Es muy difícil separar dentro de las funciones del suelo procesos químicos, físicos y biológicos debido a la dinámica interactiva natural de los mismos. Por este motivo algunos autores proponen la utilización de un conjunto de indicadores (*minimum dataset*) (Doran y Parkin, 1996) para evaluar la calidad del suelo.

Los parámetros más utilizados como indicadores del impacto del uso del suelo y de las actividades antropogénicas en la calidad son el C orgánico total, el N total y la relación C/N para evaluar la pérdida de MO (Reeves, 1997; Carter et al., 1998), la estabilidad de los agregados para evaluar riesgos de erosión (Anderson et al., 1997), las concentraciones de metales pesados para detectar la contaminación y la densidad aparente para medir la compactación (Liebig y Doran, 1999).

Los parámetros biológicos pocas veces son tenidos en cuenta para evaluar la calidad del suelo, pese al reconocimiento de la importancia del compartimento biológico del mismo en mantener y sostener sus funciones (Pankhurst, 1997; Altieri, 1999). Además, se entiende que la comprensión ecológica de los efectos antropogénicos inducidos en la biología del suelo es esencial para poder paliar el impacto de la actividad humana y conservar la biología (McGeoch, 1998). Asimismo, la utilización de especies o grupo de taxones como indicadores del impacto de las prácticas antropogénicas en las comunidades biológicas (indicadores ecológicos⁴) es un objetivo crítico en la ecología aplicada y de conservación.

4.1.1. Indicadores basados en la fauna del suelo

La sensibilidad de la fauna del suelo a las perturbaciones del medio y el hecho de integrar procesos físicos, químicos y biológicos son atributos que permiten su utilización como indicador de la calidad del suelo (Blair et al., 1996; Doube y Schmidt, 1997; Paoletti, 1999; Olfert et al., 2002; Lavelle et al., 2006). El desafío actual es definir cuáles son los parámetros que pueden ser propuestos como mejores indicadores de la calidad de un suelo, en qué circunstancias y como se pueden cuantificar.

En los últimos años, algunos investigadores han propuesto nuevos índices basados en las comunidades de la fauna del suelo para evaluar la calidad del suelo. Un índice de calidad del suelo puede definirse como el conjunto mínimo de parámetros que, cuando interrelacionan,

⁴ Un indicador ecológico es un determinado taxón o grupo que es sensible en la identificación de factores de estrés del medio, que expresa los efectos de esos factores de estrés en el biota, y cuya respuesta es representativa de la respuesta de por lo menos un subconjunto de otros taxones presentes en el hábitat (McGeoch, 1998).

aportan datos numéricos sobre la calidad del mismo para llevar a cabo una o más funciones. Estos índices pueden integrar métodos multivariantes y intentan responder a las condiciones que debe de presentar un indicador: la facilidad de comprensión por quienes lo van utilizar y el bajo coste para su obtención (Doran y Parkin, 1996).

4.1.2. Cuantificación de la fauna del suelo

La biomonitorización permite identificar y cuantificar a lo largo del tiempo alteraciones en el medio, de origen natural o antropogénico, a través del análisis de características de la fauna del suelo: medidas ecológicas tradicionales (abundancia y diversidad de especies), alteraciones morfológicas o de comportamiento, acumulación en los tejidos, etc.

Según Linden et al. (1994), los tres niveles de interacción entre la fauna y la calidad del suelo, son: organismos y poblaciones, comunidades y procesos biológicos (Tabla I-4).

Tradicionalmente, la cuantificación de los impactos de las prácticas agrícolas utilizando la fauna del suelo, se hace evaluando las comunidades. Los experimentos a nivel de comunidades permiten integrar interacciones de todos los factores del suelo, incluyendo efectos de manejo y de polución.

Sin embargo, en los niveles más altos de organización es más difícil hacer mediciones, las respuestas son lentas y su interpretación es más compleja. Es más fácil obtener medidas a nivel de individuo y poblaciones. En los últimos años, con la diversificación del tipo de herbicidas y residuos orgánicos aplicados al suelo, se recurre a la realización de bioensayos con organismos y poblaciones basados en conceptos y metodologías de la ecotoxicología idénticos a los utilizados para evaluar la toxicidad por productos químicos (Domene et al., 2007).

A continuación se describen algunos de los parámetros de la fauna del suelo que pueden ser cuantificados en diferentes niveles de organización biológica.

4.1.2.1. Comunidades

A este nivel de organización biológica se pueden medir los siguientes parámetros:

- abundancia de individuos o especies,

- biomasa de poblaciones,
- composición de especies,
- estrategias tróficas y
- presencia y abundancia de especies clave.

Estos parámetros estructurales se pueden seleccionar como indicadores para comparar y evaluar cambios en una comunidad sometida a perturbación.

Tabla I-4. Interacción entre la fauna del suelo y la calidad del suelo.

Organismos y poblaciones

Individuos

Comportamiento, morfología, fisiología

Poblaciones

Abundancia y biomasa

Tasas de crecimiento, mortalidad y reproducción

Distribución por edades

Comunidades

Grupos funcionales

Asociaciones (ej. excavadores vs no-excavadores, fauna de la hojarasca vs fauna en el suelo)

Grupos tróficos

Cadenas tróficas y redes nutricionales (microherbívoros, depredadores)

Biodiversidad

Riqueza, dominancia y equidad específica

Especies-clave

Procesos biológicos

Bioacumulación

Metales pesados y contaminantes orgánicos

Descomposición

Fragmentación de MO

Mineralización del C y nutrientes

Modificación de la estructura del suelo

Excavación y formación de bioporos

Deposición fecal y agregación del suelo

Mezcla y redistribución de la MO

Fuente : Linden et al. (1994).

Dentro de los organismos que componen la fauna del suelo, la macrofauna, al alimentarse de descomponedores primarios (como bacterias, hongos, actinomicetos) y de consumidores secundarios (como protozoarios), refleja una integración de los procesos que ocurren en el sistema. Además, la facilidad en la recolección de estos organismos y el hecho de que su papel ecológico esté mejor documentado que el de la micro y mesofauna, hacen que algunos autores consideren esta categoría de la fauna del suelo como la más indicada para medir el impacto de las prácticas agrícolas y antropogénicas (Doubt y Schmidt, 1997).

Los datos obtenidos se pueden analizar con diferentes técnicas: univariantes o multivariantes.

Técnicas univariantes: índices de diversidad

De entre las técnicas univariantes, las medidas más generalizadas son los índices de diversidad, que sintetizan la información obtenida sobre la diversidad en un solo valor y se distribuyen normalmente. De esta forma, son susceptibles de ser analizados con pruebas paramétricas robustas como los análisis de varianza y permiten hacer comparaciones rápidas y sujetas a comprobación estadística entre la diversidad de distintos hábitats o la diversidad de un mismo hábitat a través del tiempo (Magurran, 2004). Existe una gran variedad de índices y es vasta la literatura sobre esta temática. La gran mayoría de los índices propuestos para evaluar la diversidad de especies se refieren a la diversidad dentro de las comunidades (alfa). Los distintos índices de diversidad basados en la estructura de la comunidad, también denominados medidas de heterogeneidad, combinan la riqueza (número de especies presentes) y su abundancia proporcional. Cualquiera de estos índices enfatiza ya sea el grado de dominancia o la equidad de la comunidad, por lo que para fines prácticos resulta mejor clasificarlos en índices de equidad e índices de dominancia. Dentro de los índices de equidad están:

- el índice de Shannon, que indica la distribución de las abundancias de las especies, revelando especies menos frecuentes (muestras de comunidades con un valor de índice superior, tienen más diversidad) (Magurran, 2004);
- la equidad de Simpson, que está relativamente poco afectado por especies raras en la muestra (Magurran, 2004);

- el índice de Smith y Wilson, que se basa en la variancia de la abundancia de especies, es independiente de la riqueza específica y es sensible tanto a las especies raras, como a las especies comunes en la comunidad (Krebs, 1999).

Los índices basados en la dominancia son parámetros inversos al concepto de uniformidad o equidad de la comunidad. Toman en cuenta la representatividad de las especies con mayor valor de importancia sin evaluar la contribución del resto de las especies. Como ejemplo de este tipo de índice tenemos:

- el índice de Simpson, que da más peso a las especies comunes (índice superior, indica dominancia superior) (Magurran, 2004);
- el índice de Berger-Parker, cuyos valores cuando son elevados indican en aumento en la equidad y una disminución de la dominancia (Caruso et al., 2007).

Los índices de diversidad pueden ser útiles al representar medidas ecológicas rápidas y fáciles de calcular. Estos índices son utilizados para evaluar el efecto de las prácticas agrícolas en las comunidades de la fauna del suelo (Callaham et al., 2006). El hecho de que varios investigadores utilicen dichos índices permite comparaciones entre estudios similares que usan el mismo índice. No obstante, los índices de diversidad son solamente artefactos estadísticos, por lo que no presentan un significado biológico intrínseco (Magurran, 2004).

Técnicas multivariantes

Las técnicas multivariantes se basan en coeficientes de similitud calculados entre cada par de muestras. Este procedimiento facilita la clasificación o agrupación (*clustering*) de las muestras en grupos que son mutuamente similares, o una proyección de ordenación en que las muestras son “proyectadas” (en 2D o 3D) de manera que las distancias entre pares de muestras refleja su disimilitud relativa en la composición de especies. La estadística multivariante permite obtener un grado superior de resolución (es decir, puede detectar alteraciones sutiles) pues es utilizada toda la información disponible en la comunidad. Además, combinando los datos de la comunidad con factores abióticos, se puede obtener información específica acerca de los factores del suelo responsables de las alteraciones en su calidad (van Straalen, 1998).

Limitaciones de la utilización de las comunidades de fauna del suelo como indicador de la calidad del suelo

Una de las limitaciones de la utilización de las comunidades de fauna del suelo para evaluar la calidad del mismo es el hecho de que la determinación de la composición específica requiere la identificación de especies y por lo tanto del trabajo de expertos en taxonomía. Para solucionar este problema algunos autores proponen la utilización de morfoespecies en lugar de especies taxonómicas, como alternativa a las dificultades taxonómicas en situaciones particulares (Oliver y Beattie, 1996; Derraik et al., 2002). De esta forma podría utilizarse personal menos especializado sin comprometer la exactitud científica. Otra forma de solucionar el problema pasa por identificar los individuos de la fauna del suelo en niveles taxonómicos superiores. Esta solución ha sido utilizada para la estimación rápida de la diversidad de artrópodos en el contexto agrícola (Biaggini et al., 2007) o para evaluar el valor de la macrofauna como bioindicador de la contaminación en metales del suelo (Nahmani et al., 2006).

El índice *Qualità Biologica del Suolo* (QBS), propuesto por Parisi (2001), y el *Indice Biotique de Qualité du Sol* (IBQS), propuesto por Ruiz-Camacho (2004), son índices que intentan superar las conocidas dificultades del análisis taxonómico a nivel de especies para la fauna del suelo. El índice QBS es aplicado a microartrópodos, separados de acuerdo con su forma de vida y con el objetivo de evaluar su nivel de adaptación a la vida subterránea. La informatización del QBS resulta fácil para que sea utilizada por no-especialistas, pues se basa en la presencia de determinados caracteres morfológicos (pigmentación, aparato visual, apéndices, etc.), y no requiere una identificación compleja y molesta hasta el nivel de especie. El IBQS (“Indice Biotique de Qualité du Sol”) tampoco requiere una identificación compleja hasta al nivel de especie e integra métodos estadísticos multivariantes. Este índice se basa en la abundancia y en el poder indicador de taxones indicadores para determinar la calidad de un suelo.

Índices multiparamétricos

Bastida et al. (2008a) en una revisión sobre el pasado, el presente y el futuro de los índices de calidad del suelo analiza los índices multiparamétricos descritos en los últimos años. Sin embargo, en su revisión no están incluidos los índices que engloban las comunidades de la

fauna del suelo. El *General Indicator of Soil Quality* (GISQ), propuesto por Velásquez et al. (2007), es un ejemplo. El GISQ, permite evaluar las funciones del suelo a través de un conjunto de cinco subindicadores, que después se combinan en un índice global de la calidad del suelo. Los subindicadores engloban la calidad física, la fertilidad química, la morfología, las reservas de MO y la diversidad y composición de las comunidades de macroinvertebrados. Para su cálculo se utilizan las variables que permiten evaluar las diferentes funciones del suelo, según Lavelle et al. (2006). Se asume que cuantas más funciones el suelo desarrolla, mejor es su calidad. El GISQ ha sido diseñado para evaluar diferentes prácticas de manejo en las laderas tropicales americanas. Sin embargo, la metodología utilizada en el GISQ puede aplicarse a cualquier grupo de zonas que necesite una evaluación comparativa. Actualmente el GISQ se encuentra en fase de validación y se propone el diseño de fórmulas aplicables a nivel regional que permitan comparar la calidad del suelo dentro de regiones en donde las condiciones edáficas y climáticas son razonablemente homogéneas. Desde su publicación, este índice ha sido aplicado con éxito por Cecillion et al. (2009) y empleado en un gran número de proyectos y zonas. Aunque se hayan apuntado algunas críticas relacionadas con sus fundamentos estadísticos (Rossi et al., 2009), este índice sigue siendo respaldado por publicaciones de matemáticas aplicadas (Zhu et al., 2008) y por el hecho de haber contado con la ayuda de los creadores del programa ADE-4 en la etapa de diseño (Thioulouse et al., 1997).

4.1.2.2. Organismos y poblaciones

A este nivel de organización, las respuestas específicas de los organismos a un determinado impacto en el medio, medidas a través de test ecotoxicológicos, pueden actuar como indicadores de las alteraciones ocurridas (biomarcadores). Las respuestas de los organismos a determinada perturbación se pueden medir a través de bioensayos que determinan una relación dosis-respuesta con el fin de conocer si se está lejos de la dosis que causa efectos tóxicos desvelados a través de los biomarcadores.

Los organismos utilizados más frecuentemente en test ecotoxicológicos terrestres son los colémbolos (*Folsomia candida*) y las lombrices (*Eisenia andrei* o *Eisenia fetida*) por su facilidad de multiplicación en laboratorio, por sus tiempos de generación cortos y por

manifestar gran sensibilidad a la contaminación del suelo (Yeardley et al., 1996; Fountain y Hopkin, 2005).

Los biomarcadores pueden medir la mortalidad (parámetro tradicional en estudios de contaminación) o pueden medir respuestas que indiquen que el organismo está, o está a punto de estar, estresado a causa de una exposición crónica (respuestas moleculares, bioquímicas y fisiológicas).

Las respuestas moleculares son obtenidas a través de técnicas de manipulación del material genético permitiendo detectar casos de carcinogénesis, mutagénesis y teratogénesis. Las respuestas bioquímicas se basan en técnicas que incluyen proteínas y la inhibición de enzimas (como la acetilcolinesterasa). Las respuestas fisiológicas incluyen medidas de la respiración y fotosíntesis, de la alimentación, del crecimiento, de la reproducción, de trastornos endocrinos y de respuestas de comportamiento.

Respuestas de comportamiento

Actualmente en la evaluación de la calidad del suelo los test normalizados que utilizan la fauna del suelo son: i) el test de mortalidad de lombrices (ISO, 1993), ii) los test de reproducción con lombrices (ISO, 1996) y con colémbolos (ISO, 1999) y iii) los test de fuga con lombrices (ISO, 2008) y con colémbolos (ISO, 2007).

Dentro de los test ecotoxicológicos de corta duración, los test de fuga (*Avoidance Behavior Test*) han demostrado gran sensibilidad en la evaluación de suelos contaminados (Yeardley et al., 1996; Natal-da-Luz et al., 2004; Lukkari y Haimi, 2005; Niemeyer et al., 2006; Aldaya et al., 2006) y han revelado también su capacidad para evaluar la función de hábitat del suelo (Hund-Rinke y Wiechering, 2001; Hund-Rinke et al., 2003). En los test de fuga, se considera que los organismos ensayados tienen la opción de responder a condiciones ambientales que le son desfavorables dejando o evitando la zona contaminada. Son test rápidos, de bajo coste y permiten detectar concentraciones relativamente bajas de determinados contaminantes (Yeardley et al., 1996).

Estos test pueden ser utilizados en las fases iniciales de la evaluación del riesgo ecológico (Loureiro et al., 2005; Natal-da-Luz et al., 2008). Sin embargo, en el caso de observarse un efecto o en el caso en que haya una ambigüedad de la respuesta debido a factores de confusión

como puede ser la materia orgánica, deben ser complementados con ensayos de mayor duración (Natal-da-Luz et al., 2009).

Respuestas de crecimiento

El crecimiento es también un parámetro muy importante que puede estar directamente relacionado con la capacidad de un organismo para sobrevivir y reproducirse. El crecimiento representa la integración de la alimentación, asimilación y gasto en energía durante un periodo de tiempo relativamente largo (Connel et al., 1999). Se considera que la energía disponible para el crecimiento deberá reducirse si un organismo está bajo estrés tóxico (Connel et al., 1999). El bajo crecimiento amplía el tiempo necesario para que el individuo logre la madurez y posiblemente el potencial reproductivo, que puede afectar directamente a la supervivencia, a la forma física de los individuos y a las poblaciones en su hábitat natural. Un problema que podrá presentar este parámetro fisiológico es que para que ocurran diferencias en el crecimiento característico de algunas especies puede necesitarse mucho tiempo. Sin embargo, utilizando lombrices, las alteraciones de crecimiento pueden ser medidas en test de laboratorio en veintiocho días (Edwards y Bohlen, 1996). Estudios sobre contaminación de suelos y aplicación de pesticidas utilizan, conjuntamente con otros parámetros, el crecimiento de lombrices (Fisher y Molnar, 1997; Capowiez et al., 2005; Léduc et al., 2008). Sin embargo hay pocos trabajos que ilustren su sensibilidad como indicador de la aplicación de residuos orgánicos en los suelos (Gunadi y Edwards, 2003).

Bioacumulación

La bioacumulación es uno de los procesos biológicos que permite medir la interacción entre la fauna del suelo y la calidad del mismo (Linden et al., 1994). Este proceso es el resultado de la absorción y liberación de contaminantes y puede indicar su biodisponibilidad en el medio (Connel et al., 1999). Cuando la absorción se realiza directamente del medio (del agua, del suelo o del sedimento) el incremento en los niveles del tejido respecto a los niveles en el medio es la bioconcentración (Connel et al., 1999). Cuando la absorción engloba procesos de bioconcentración y el transporte trófico, el incremento en los niveles del tejido respecto a los niveles en la fuente de alimento se denomina biomagnificación (Connel et al., 1999).

La extensión en la cual ocurre acumulación es generalmente representada por el factor de bioconcentración (*Bioconcentration Factor*- BF-), que es la relación entre la concentración en el organismo y la concentración en el sustrato.

Dentro de los organismos que constituyen la fauna del suelo, la mayoría de los estudios de bioacumulación de diversas sustancias utilizan lombrices (Heinkens et al., 2001; Kinney et al., 2008). Determinados niveles de contaminantes en las lombrices pueden no ser perjudiciales para su papel ecológico, pero la ingestión de lombrices contaminadas por sus depredadores puede llevar a la acumulación de químicos tóxicos a través de la cadena trófica. Nahmani et al. (2007) presenta una revisión de los estudios realizados para evaluar la captura de metales pesados por las lombrices.

Además, por ser un parámetro relativamente fácil de medir, se ha propuesto que la bioacumulación forme parte de programas de monitorización en la aplicación de residuos orgánicos en los suelos agrícolas (Alvarenga et al., 2007).

La inclusión de bioensayos en la evaluación del riesgo de residuos orgánicos

Son muchas las técnicas disponibles para evaluar el impacto de la aplicación de residuos orgánicos en los suelos, pero ninguna puede proporcionar todas las respuestas. Se propone la utilización de un conjunto de métodos para monitorizar la valorización agrícola de residuos orgánicos (Domene et al., 2008; Moreira et al., 2008; Natal-da-Luz et al., 2008). Los test a incluir en estos programas dependen de un gran número de variables (como el tipo de residuo, las características de los cultivos y de los suelos receptores, y las condiciones climáticas) por lo que es importante evaluar la sensibilidad de diferentes parámetros indicadores del impacto en la calidad del suelo utilizando diferentes tipos de residuos y con base en la especificidad local. Dada la creciente producción de residuos, es necesario evaluar estos aspectos en residuos nuevos, como es el caso de los lodos de depuradora láctea, para los cuales no existen estudios sobre el impacto de su aplicación en la fauna del suelo.

Los bioensayos al permitir evaluar la biodisponibilidad de los contaminantes y de sus subproductos de degradación, se proponen como complemento de los análisis químicos para monitorizar el impacto de la valorización agrícola de residuos (Crouau et al., 2002; Domene et al., 2008; Moreira et al., 2008; Natal-da-Luz et al., 2009).

Por otro lado, es importante realizar experimentos a largo-plazo. Muchos de los estudios que investigan los efectos de los residuos en la fauna del suelo son realizados a corto plazo y/o solamente abarcan una estación de crecimiento. Sin embargo, los datos obtenidos a largo plazo son esenciales para determinar los efectos de la intensificación en los modelos/patrones de las fluctuaciones temporales de artrópodos y qué efectos de la intensificación son consistentes e importantes en una perspectiva a largo plazo (Wardle et al., 1999).

II. Material y Métodos

El organigrama experimental consta de dos apartados: los ensayos efectuados en campo y los llevados a cabo en el laboratorio (Figura II-1). A continuación se describe la metodología aplicada en los experimentos realizados para cada uno de los casos.

1. Experimentos de campo

Los experimentos realizados en condiciones de campo se han abordado desde dos perspectivas diferentes teniendo en cuenta la superficie de las parcelas y la toma de decisión sobre el plan de fertilización. En el primer caso, “Ensayo Dirigido”, se ha establecido un ensayo en donde se han delimitado parcelas de 4 m² que se han sometido a la fertilización con diferentes residuos orgánicos. En el segundo caso, “Parcelas Monitorizadas”, se han tomado muestras en parcelas agrícolas, de aproximadamente 1 ha, en las que no se ha cambiado el plan de fertilización/manejo adoptado por el agricultor.

En ambos casos, las parcelas de estudio se ubicaban en Vilalba (Lugo) por lo que se empieza por hacer una breve caracterización climática y edafológica de esta zona.

1.1. Descripción de la zona

El municipio de Vilalba, con una superficie de 381 km², está ubicado al norte de Galicia y al oeste de la provincia de Lugo, entre las latitudes de 43°27'05''N y 43°11'21''N y las longitudes de 7°48'55''W y 7°30'49''W.

La altimetría permite dividir el municipio en tres grandes zonas (planicie, montaña y alta montaña), siendo la zona de planicie (A Chaira), que incluye las elevaciones entre los 400 y los 600 m, la que ocupa el 87 % del territorio.

En los planos 23, 47 y 72 de la cartografía a la escala 1:50.000 del Instituto Geológico y Minero de España correspondientes a la zona de estudio, hay nueve grandes grupos de formaciones geológicas. La Serie Vilalba, que ocupa más de la mitad de la superficie municipal, es un conjunto sedimentario con esquistos, micaesquistos, gneises y anfíbolitas de grano fino.

Respecto a las pendientes, la mayor parte del territorio presenta pendientes inferiores a 3 % y entre 3 y 7 %.

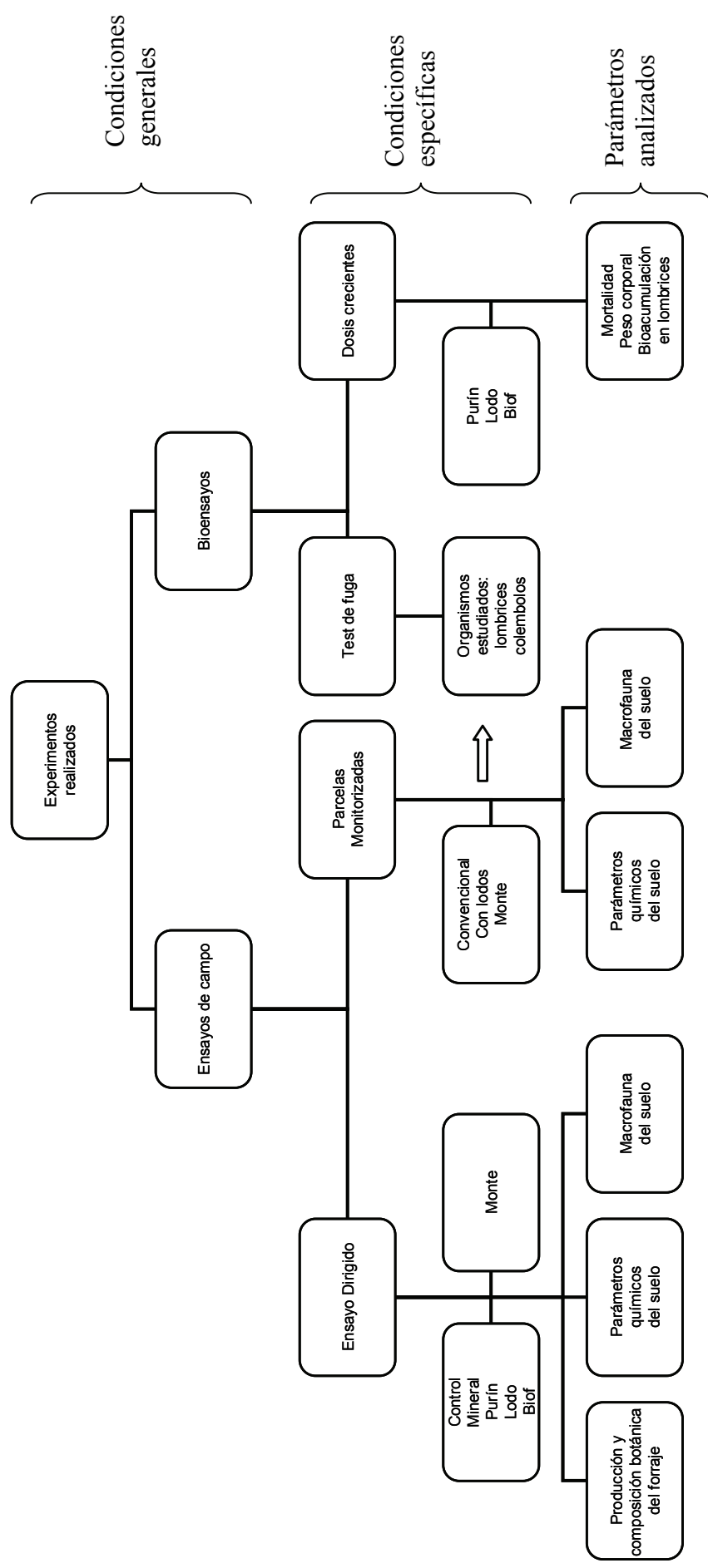


Figura II-1. Experimentos realizados en campo y en laboratorio, tratamientos fertilizantes estudiados y parámetros registrados para el análisis de datos.

Los suelos del municipio de Vilalba, como en la mayoría de Galicia, son ácidos debido a la existencia de precipitaciones moderadas y a determinados materiales de origen ácida (Macías et al., 1982).

Los suelos más comunes en Vilalba se engloban en los siguientes grupos y unidades de suelos: Umbrisoles, Cambisoles, Gleisoles-úmbricos (Gleisoles y Pseudogleis), Podsoles y Podsoluvisoles (FAO, 1998).

La temperatura media anual en la zona es de 11,5 °C y la precipitación media anual es de 1084 mm, según el resumen histórico de los años 1971 a 2000 (INM, 2001). Las precipitaciones se concentran sobre todo en otoño y en invierno (35 % y 29 %, respectivamente), lloviendo menos en primavera (22 %) y tan sólo un 14 % en verano.

1.2. Ensayo Dirigido

1.2.1. Diseño experimental

En septiembre de 2001 se planteó un ensayo de campo en el que se transformó un terreno de monte a pradera con el fin de ganar terreno agrícola, práctica común en la región. El suelo de partida mantenía una vegetación predominantemente arbórea y arbustiva: *Pinus pinaster* Aiton, *Castanea sativa* Mill, *Ulex* L. Sp. y *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. Antes de la instalación de la pradera, el suelo presentaba las siguientes características: alto contenido en materia orgánica (MO; 9,33%), bajo pH (pH en agua=5,5), bajo contenido en fósforo disponible (P; 5,81 mg kg⁻¹) y una fuerte retención del mismo (pH NaF>10), buena provisión en potasio (K; 156 mg kg⁻¹) y alta saturación en aluminio (Al; 38 %).

Tras el desbroce del monte, se hizo un encalado de corrección con 3 ton ha⁻¹ de caliza (OCa 60 %) ya que el suelo presentaba una saturación de Al demasiado elevada para el establecimiento de una pradera, que debe tener como máximo un 20 % (Duthil, 1989). Después del abonado de corrección se sembró la siguiente mezcla: 40 kg ha⁻¹ de *Lolium perenne* L. cv. “Tove”, 20 kg ha⁻¹ de *Lolium hybridum* Hausskn cv. “Texy” y 6 kg ha⁻¹ de *Trifolium repens* L. cv. “Huia” en las parcelas sometidas a diferentes tipos de fertilización de acuerdo con el diseño experimental, explicado a continuación.

Para evaluar el efecto de distintos residuos en las características químicas del suelo, en la productividad y en la composición botánica del forraje y en las comunidades de macrofauna

del suelo, se ha establecido un diseño en bloques al azar con cuatro repeticiones por tratamiento. Se han evaluado los siguientes tratamientos fertilizantes:

- Control (C), dosis bajas anuales de abonado mineral para facilitar el establecimiento y la competitividad de las especies sembradas frente a la vegetación natural;
- Mineral (M), fertilizantes químicos de síntesis;
- Purín (P), purín de vacuno;
- Lodo (L), lodos de depuradora de industria láctea;
- Biof⁵ (B), estiércol deshidratado y granulado de pollo.

Los cinco tratamientos del ensayo fueron distribuidos completamente al azar, lo que se corresponde con veinte unidades experimentales (5 x 4) con las dimensiones de 3 x 1,3 m separadas por pasillos de 1,65 m (Figuras II-2 y II-3). A mayores, se ha seleccionado una zona de referencia (Monte), ubicada en las inmediaciones de las parcelas agrícolas y que no ha recibido ningún tipo de fertilización.

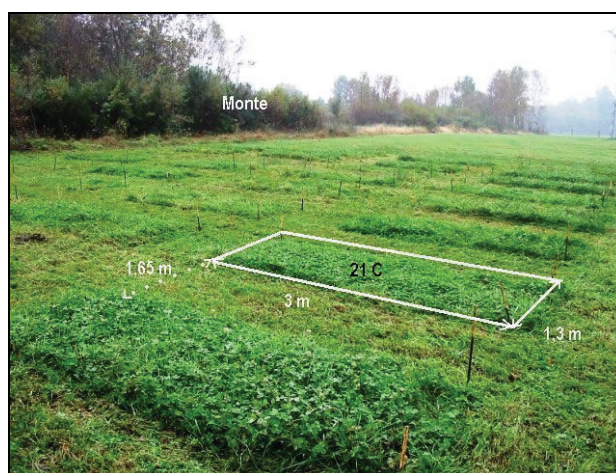


Figura II-2. Vista general del Ensayo Dirigido en noviembre de 2002, dimensiones de las unidades experimentales y de los pasillos y localización de la zona de referencia (Monte).

⁵ Marca comercial del estiércol deshidratado y granulado de pollo.

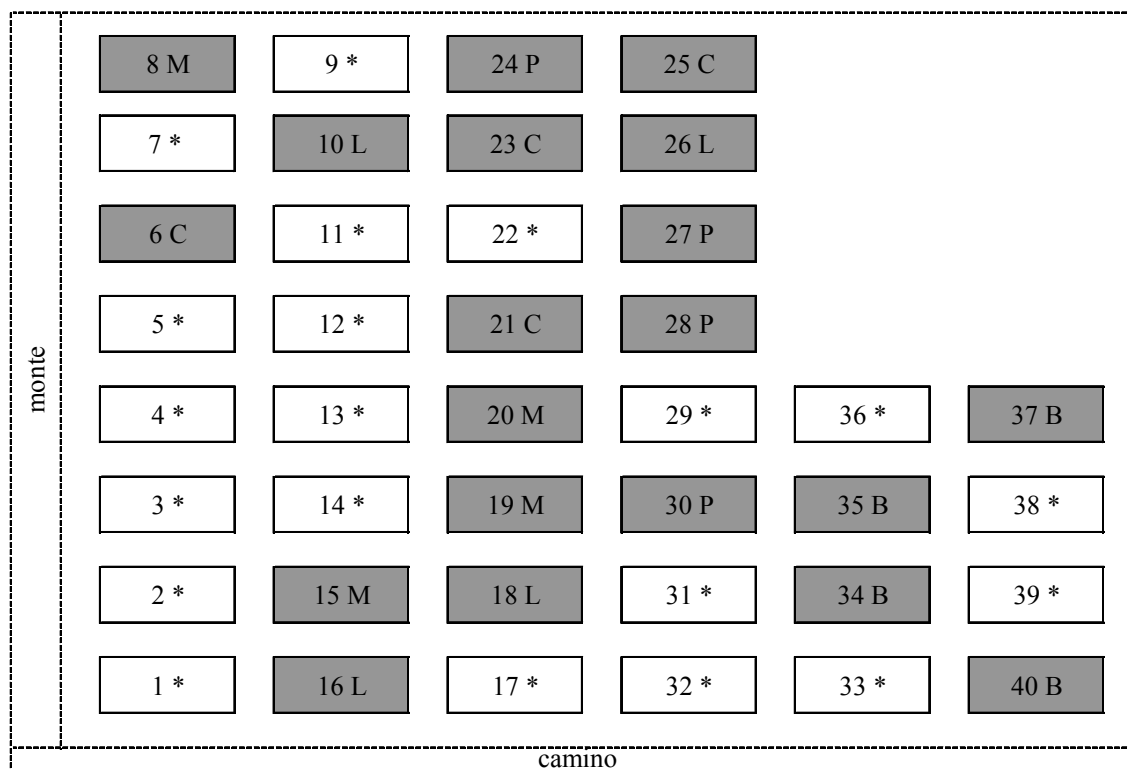


Figura II-3. Disposición al azar en el terreno de las parcelas en estudio (representadas en gris).

* indica parcelas que recibieron inóculos de micorrizas y que no formaron parte de este estudio. C: Control, M: Mineral, P: Purín, L: Lodo, B: Biof.

1.2.2. Residuos orgánicos

Las principales características de los distintos residuos orgánicos utilizados se presentan en las Tablas II-1 y II-2.

Para la estrategia de aplicación de los distintos abonados se han seguido las recomendaciones del Código das Boas Prácticas Agrarias (Xunta de Galicia, 1999), que se basa en los niveles de nitrógeno (N) y en las necesidades en N, P y K de una pradera mixta (200-150-150), nunca superando los 200 kg N ha⁻¹ (Piñeiro y Pérez, 1977).

En la fertilización de fondo, las parcelas del tratamiento Mineral se abonaron con 300 kg ha⁻¹ de un abono compuesto NPK 5-15-13. Para los demás tratamientos, las dosis de N han sido calculadas de forma que fueran equivalentes a la aplicada en el tratamiento Mineral.

Para cada tratamiento se ha realizado el abonado de mantenimiento de la pradera en marzo y después del corte de silo (mayo), sobre todo para cubrir las necesidades del cultivo especialmente en N.

Tabla II-1. Características medias de los residuos orgánicos utilizados y dosis medias aplicadas.

Residuos orgánicos (dosis año ⁻¹)	Extracto seco g L ⁻¹	pH	CE dS m ⁻¹	C ^a %	N ^a %	P ^b %	K ^b %	Na ^b %	Ca ^b %	Mg ^b %	C/N	C/P
Purín (P) 50 m ³ ha ⁻¹	18,2	7,1	4,0	40,0	5,1	2,0	9,6	2,4	0,8	0,7	7,8	20,0
Lodo (L) 120 m ³ ha ⁻¹	20,0	7,1	3,4	35,6	6,2	2,1	1,1	3,2	2,2	0,4	5,7	17,0
Biof (B) 4500 kg ha ⁻¹	89,1 ^c	7,9	11,1	36,8	4,0	1,6	2,8	1,6	1,9	0,7	9,2	23,0

^a determinados por combustión mediante auto-analizador (CNS2000 de LECO); ^b determinados por espectrofotometría de absorción atómica en extractos obtenidos de la digestión de las muestras en HNO₃ 70%; ^c materia seca (%). n=7.

Los N, P y K minerales han sido aportados como fertilizantes comerciales simples: el N en forma de nitrato amónico (20,5 % N), el P como superfosfato (18 % P₂O₅) y el K como sulfato potasico (50 % K₂O).

En las parcelas de tratamiento Mineral, después del abonado de corrección, se han aplicado anualmente dosis equivalentes a 30 kg ha⁻¹ de N y 45 kg ha⁻¹ de P₂O₅.

El purín, proveniente de una granja de vacuno de carne ubicada en las inmediaciones del ensayo, fue aplicado superficialmente con regadera simulando la aplicación que se realiza en la zona con tractor cisterna de vacuo equipado con difusor aéreo. En el abonado de mantenimiento se ha aplicado normalmente una dosis de purín de 50 m³ ha⁻¹, dependiendo de la composición del purín y del estado de fertilidad del suelo.

Los lodos utilizados resultaron del tratamiento biológico con fangos activos de los efluentes residuales (restos de leche, agua y productos de lavado) de una industria láctea ubicada en la zona. En el abonado de corrección se aportó también K hasta alcanzar los mismos niveles que aportaba el abonado mineral, debido a la pobreza de los lodos en este nutriente (Tabla II-1). En el abonado de mantenimiento, la estrategia de aplicación de estos lodos se basó en trabajos previos realizados por el equipo investigador (López-Mosquera et al., 2001) en los cuales las dosis aplicadas se calcularon en función de la composición del lodo y del estado de fertilidad del suelo. La dosis media anual aplicada ha sido de 120 m³ ha⁻¹. Su aplicación en el terreno se hizo del mismo modo que para el purín.

El estiércol de pollo utilizado procedió de una granja de pollos de engorde también situada en la región, donde deshidratan y granulan industrialmente el estiércol fresco para convertirlo en

un abono orgánico comercial (López-Mosquera et al., 2008). La estrategia de manejo del estiércol se basó en una única aplicación anual de 4500 kg ha⁻¹, considerando que a lo largo del año podría llegar a ser disponible el 60 % del N total aportado por este abono (Bitzer y Sims, 1988; Evers, 1998).

En el Anexo I se puede consultar información más detallada sobre el proceso de producción de los lodos de depuradora y del estiércol de pollo utilizados en este trabajo.

Tabla II-2. Concentraciones medias de metales pesados en los residuos orgánicos y límites propuestos en la legislación.

Residuo orgánico	metales pesados (mg kg ⁻¹ de MS)					
	Cr	Cu	Cd	Pb	Zn	Ni
Lodo (L)	9,97	21,54	0,19	4,01	118,46	7,29
Purín (P)	0,86	22,03	0,22	0,94	98,93	4,15
Biof (B)	7,98	88,05	0,16	0,92	275,26	6,33
<u>Límite lodos</u>						
Directiva 86/278/EEC	No definida	1000-1750	20-40	750-1200	2500-4000	300-400
3er draft	1000	1000	10	750	2500	300
<u>Límite productos fertilizantes^a</u>						
Clase A	0	70	0,7	45	200	25
Clase B	0	300	2	150	500	90
Clase C	0	400	3	200	1000	100

^a Clase de producto (A, B o C), en cuanto a sus contenidos máximos en metales pesados según el Real Decreto 824/2005 (BOE, 2005). n=7.

1.3. Parcelas Monitorizadas

Se han seleccionado seis parcelas agrícolas pertenecientes al mismo agricultor y ubicadas en la misma zona que el Ensayo Dirigido. Las parcelas seleccionadas tenían aproximadamente la misma superficie (1 ha) y estaban sometidas al mismo tipo de cultivo (producción de raigrás) y de manejo: fertilización en primavera y otoño, después de cada corte para aprovechamiento del forraje. Sin embargo, presentaban diferencias en el tipo de fertilizante recibido. Mientras que en las parcelas C1 y C2 (fertilización convencional) se ha mantenido la fertilización habitual en la región, es decir, aplicación de purín complementada con abonos químicos nitrogenados, en las restantes parcelas se han empezado a aplicar lodos (L). En estas parcelas se ha establecido una secuencia en función de la longevidad de aplicación de los lodos: tres años (L1), dos años (L2), un año (L3) y seis meses (L4), respectivamente. Los lodos aplicados

fueron los mismos que para el Ensayo Dirigido, pero las dosis han sido ajustadas según las necesidades del agricultor y la disponibilidad en la fábrica de leche. Las dosis anuales de lodos aplicadas en cada parcela se representan en la Figura II-4. Al igual que en el Ensayo Dirigido, se ha seleccionado una zona de referencia (Monte) en las inmediaciones de estas parcelas, que no ha recibido ningún tipo de fertilización.

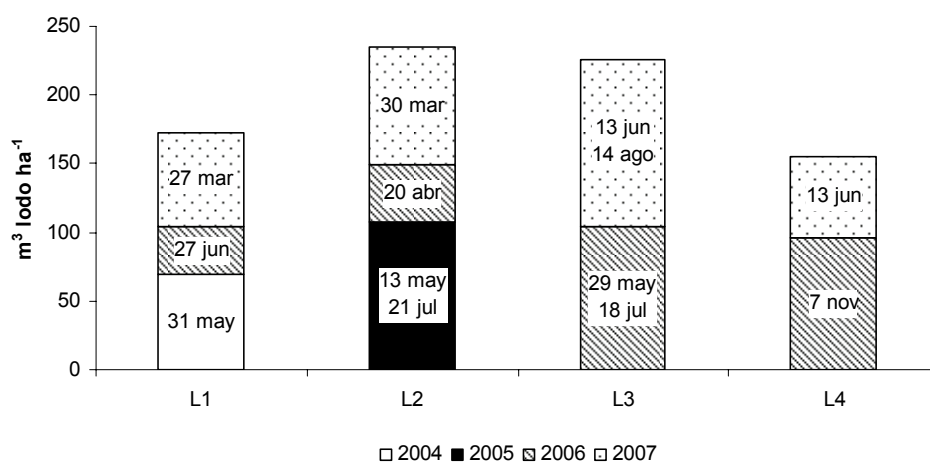


Figura II-4. Volumen anual de lodos aplicados y fechas de aplicación en las parcelas L1, L2, L3 y L4 entre los años 2004 y 2007.

1.4. Muestreo y procesamiento de las muestras

Se han realizado muestreos de suelo, de planta y de fauna en las fechas indicadas en la Tabla II-3.

1.4.1. Muestras de suelo

Para cada fecha, las muestras de suelo se dejaron secar al aire y se tamizaron mediante un tamiz de 2 mm. En ellas se determinó: pH H₂O y pH KCl (en una suspensión 1:1 y 1:2.5 v:v, respectivamente), carbono y nitrógeno total por combustión mediante autoanalizador (modelo, CNS 2000 de LECO), fósforo extraíble en HNaCO₃ (Olsen y Dean, 1965) y determinado mediante espectrofotometría UV/V (modelo, JENWAY 6300), y cationes de cambio (Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺, K⁺ y Al³⁺), extraídos con NH₄Cl (Peech et al., 1947) y determinados por espectrofotometría de absorción atómica (modelo, VARIAN 220). La

capacidad de intercambio de cationes efectiva (CIC_e) fue calculada como la suma de las bases (S) y del aluminio de cambio. La saturación en Al (%) se ha calculado como: $([Al^{+3}]/CIC_e)*100$.

Tabla II-3. Meses de toma de muestras de suelo, planta y fauna, entre 2002 y 2007.

Suelos	Planta	Fauna
<u>Ensayo Dirigido</u>		
2002: mar, may, nov	2002: may, nov	
2003: mar, may, julio	2003: may, jul	
2004: mar, may, julio, nov	2004: may, jul, nov	2004: may, nov
2005: mar, may, julio, nov	2005: may, jul, nov	2005: may, nov
2006: mar, may, jul, nov	2006: mayo, jul, nov	2006: may, nov
<u>Parcelas Monitorizadas</u>		
2006: sep	-	2006: sep
2007: may		2007: may

1.4.2. Muestras de planta

En el Ensayo Dirigido, cada año se hicieron de dos a tres cortes de forraje dependiendo de las condiciones meteorológicas. Los cortes realizados en mayo o julio han correspondido a cortes para silo y los cortes efectuados en noviembre fueron cortes para simulación de pastoreo. Se utilizó una segadora con una barra de corte de 1,30 m de ancho y con una altura residual de 5 cm. En el campo, se ha pesado el forraje fresco total obtenido en cada parcela con un dinamómetro. Se tomaron submuestras de 500 a 1000 g del forraje de cada parcela que se pesaron en fresco y después de secarlas en estufa a 70 °C durante 48 h, calculando así la productividad (en $kg\ ha^{-1}$ expresada en materia seca).

Para la caracterización botánica de las muestras, se separaron gramíneas, trébol, plantas de otras familias y material senescente de cada muestra de forraje. Cada fracción de material vegetal se secó en estufa (a 70 °C durante 48 h), estimándose su porcentaje en el forraje en base a peso seco.

1.4.3. Muestras de las comunidades de macrofauna

La macrofauna del suelo ha sido capturada utilizando trampas de caída (*pitfall*), que son utilizadas en la captura de fauna epiedáfica (Meyer, 1996; Coleman et al., 2004). Estas trampas además de su bajo precio, son fáciles de usar y permiten coger gran número de individuos. Este método indica la cantidad de organismos activos en una determinada zona dando una estimación del número de organismos en esa zona (Ekschmitt et al., 1997). Cada trampa ha consistido en un recipiente de plástico (l: 15 cm, w: 10 cm, h: 5 cm) enterrado en el suelo de manera que el borde quedara al nivel de la superficie (Figura II-5). Se ha llenado la mitad del recipiente con un líquido que pudiera conservar los organismos, en este caso se ha elegido el vino blanco.

En el Ensayo Dirigido se ha colocado una trampa en cada una de las parcelas y se han puesto cuatro trampas, a lo largo de un transecto, en la parcela de referencia, obteniéndose un total de veinticuatro trampas por fecha de muestreo.

En las Parcelas Monitorizadas se han colocado cuatro trampas a lo largo de un transecto en cada parcela fertilizada y en la parcela de referencia, totalizando veintiocho trampas por fecha de muestreo.



Figura II-5. Características y dimensiones de la trampa *pitfall*.

En cada fecha de muestreo, después de cuatro días se han recogido las trampas y se han conservado los individuos colectados en alcohol al 70 %. En el laboratorio, con la ayuda de la

lupa, se identificaron los individuos en niveles taxonómicos superiores (familia/orden) utilizando diferentes claves (Barrientos, 1988; Zahradnik, 1989). Los grupos taxonómicos identificados han sido: Gasteropoda, Araneae, Isopoda, Chilopoda, Diplopoda, Tricoptera, Ephemeroptera, Orthoptera, Hemiptera (Homoptera y Heteroptera), Diptera, Coleoptera e Hymenoptera. Se hizo la separación al nivel de familias para los individuos pertenecientes a los órdenes Gasteropoda (Arionidae, Agriolimacidae, Helicidae), Orthoptera (Gryllidae y Acrididae), Coleoptera (varias familias) y Hymenoptera (Formicidae, Vespidae y Apidae). Se han agrupado todas las larvas capturadas en un grupo con la designación “Larvas”.

1.5. Tratamiento de los datos

1.5.1. Datos de suelo

Para analizar estadísticamente los datos de suelo obtenidos durante los tres primeros años del Ensayo Dirigido, se ha comenzado por hacer un Análisis de Componentes Principales (ACP) para cada año de estudio, con el objetivo de evaluar si existían diferencias significativas consistentes entre los tratamientos (aparición de grupos diferentes correspondientes a cada tratamiento) a lo largo del periodo de estudio, y detectar que parámetros del suelo serían los mas significativos para detectar las posibles diferencias. El ACP, representado gráficamente por la dispersión 3D de los datos, se ha realizado extrayendo tres factores (x, y, z) y haciendo la rotación por el método *varimax* (Zar, 1996).

También se ha realizado el análisis de varianza (ANOVA) del conjunto de los tres primeros años de ensayo para verificar la significación de los efectos de las fechas de muestreo y de las interacciones “fechas de muestreo x tratamientos fertilizantes” sobre los parámetros del suelo. La significación de los valores F calculados, para los factores y sus interacciones, fueron establecidas para probabilidades inferiores a 5 % (*), a 1 % (**) y a 0,1 % (***), considerándose como significativos, muy significativos y altamente significativos.

A continuación, se procedió al ANOVA de los resultados de los tratamientos fertilizantes estudiados en las diferentes fechas para los datos de suelo. Para las respuestas a los tratamientos e interacciones cuyas medias revelaron diferencias significativas en el análisis de varianza, se procedió a la evaluación de dichas diferencias con una probabilidad de error del 5 % a través del test de la Diferencia Mínima Significativa (DMS) o el test de Games-Howell

(para varianzas no homogéneas).

Los análisis de varianza fueron precedidos de la verificación de los presupuestos necesarios a su realización: muestreo al azar, en que los datos provienen de poblaciones con distribuciones normales (test de Kolmogorov-Smirnov) y con varianzas homogéneas (test de Levene).

Las correlaciones entre variables (parámetros del suelo y producción de forraje) se calcularon con el coeficiente de Pearson (r) para un nivel de significación de 1 % y de 5 %.

Para el análisis estadístico se ha utilizado el paquete estadístico SPSS 16.0.

1.5.2. Datos de planta

Los datos de la producción anual de forraje obtenidos en el Ensayo Dirigido han sido sometidos a un análisis de varianza, según el procedimiento seguido para los datos de suelo. Para el total de los cortes de forraje realizados en cada año, se ha determinado la proporción de gramíneas, trébol, plantas de otras familias y material senescente.

1.5.3. Datos de fauna

1.5.3.1. Análisis descriptivo de las comunidades de macrofauna

En una primera aproximación, las comunidades de macrofauna capturadas han sido descritas a través de: i) los efectivos totales, los efectivos para cada tratamiento y para cada fecha de muestreo; ii) la distribución lognormal de los efectivos totales para cada tratamiento (Krebs, 1999) (iii) del número total de taxones, el número de taxones por tratamiento y para cada fecha de muestreo y vi) de los efectivos totales de los taxones más abundantes y su distribución por tratamientos.

A continuación, se han calculado índices de diversidad de acuerdo con Magurran (2004) y utilizando el programa EcoMeth 6.1. Los índices calculados para los individuos capturados incluyeron:

- índice de diversidad de Simpson (1-D),
- índice de Shannon-Wiener (H'),
- medida de equidad de Simpson ($E_{1/D}$),

- índice de equidad de Smith y Wilson (Evar) y
- índice de Berger-Parker (d).

Estos índices son medidas de la diversidad α , que representa el número de especies diferentes de la comunidad biológica dentro de un hábitat (Magurran, 2004). Los datos obtenidos han sido sometidos primero a un ANOVA de dos factores considerando el factor tratamiento y el factor fecha de muestreo. Después se ha analizado la evolución del factor tratamiento a lo largo del tiempo a través de un ANOVA, utilizando el procedimiento anteriormente explicado para los datos de suelo. Se han aplicado transformaciones logarítmicas cuando no se han verificado los presupuestos necesarios a su realización.

1.5.3.2. Análisis multivariante de las comunidades de macrofauna

Tras el análisis descriptivo univariante de las comunidades de macrofauna, se ha realizado un análisis multivariante para intentar agrupar los diferentes tratamientos en función de la similitud de las comunidades de macrofauna recolectadas en cada una de ellas. El análisis multivariante ha sido ejecutado con el programa PRIMER 5.0 (Clarke y Warwick, 2001). Este programa se ha desarrollado para el medio marino. Sin embargo, en la actualidad la metodología usada en este programa viene siendo aplicada en múltiples contextos: acuáticos, terrestres y paleontológicos (Migliorini et al., 2005 y Zolda, 2006).

Se ha empezado por definir los factores a considerar en el Ensayo Dirigido y en las Parcelas Monitorizadas.

Para el Ensayo Dirigido se han elegido cuatro factores:

1. *season*, para separar los muestreos de primavera (mayo de 2004, mayo de 2005 y mayo de 2006) y de otoño (noviembre de 2004 y noviembre de 2005),
2. *shrub*, para distinguir entre las parcelas de prado fertilizadas o no (C, M, P, L, B) y la parcela de Monte de referencia (Mte),
3. *control*, para diferenciar la parcela Control (C), las parcelas fertilizadas (M, P, L, B) y la parcela Monte de referencia (Mte),

4. *fertilizer*, para distinguir las parcelas no fertilizadas de prado (C) o de monte (Mte), las parcelas fertilizadas con abono mineral (M) y las parcelas abonadas con residuos orgánicos (P, L, B).

Para las Parcelas Monitorizadas se han elegido tres factores:

1. *season*, para diferenciar el muestreo realizado en otoño (septiembre de 2006) del muestreo realizado en primavera (mayo de 2007).
2. *shrub*, para diferenciar las parcelas fertilizadas de pradera de las parcelas no fertilizadas (Monte) y
3. *fertilizer*, para distinguir entre Convencional (parcelas fertilizadas tradicionalmente con fertilizantes químicos y purín), Orgánica (parcelas fertilizadas a mayores con lodos de depuradora de una industria láctea) y Monte (parcela no fertilizada ubicada en las inmediaciones de las otras parcelas).

Los datos fueron transformados en su raíz cuadrada y se calculó una matriz de similitud entre las parcelas estudiadas utilizando el coeficiente de similitud de Bray-Curtis (Clarke y Warwick, 2001). Se ha realizado un análisis de similitud (ANalysis Of SIMilarities-ANOSIM) para determinar la significación estadística en la discriminación de grupos que se ha efectuado *a priori*. El ANOSIM es un procedimiento estadístico equivalente al ANOVA, pero en este caso no hace falta que los datos cumplan con los presupuestos de normalidad y homogeneidad (lo que es difícil de conseguir en datos de abundancia de comunidades de macrofauna, debido a la presencia de muchos valores “cero”). El ANOSIM se basa en permutaciones simples no-paramétricas, aplicadas a la matriz de similitud. En este caso se han realizado 999 permutaciones en cada análisis. Como medida comparativa del grado de separación de los tratamientos/parcelas se ha utilizado el test estadístico r_s . El estadístico r_s está generalmente entre cero (las similitudes entre y dentro de los tratamientos/parcelas son las mismas) y uno (todas las réplicas de cada tratamiento/parcela son más similares entre ellas de lo que cualquier réplica de otro tratamiento/parcela).

Para los grupos significativamente discriminados, se han representado las comunidades en un dendrograma (*cluster*) y con un gráfico MDS (*Non-metric Multidimensional Scaling- MDS*). El MDS es un algoritmo complejo actualmente utilizado en el tratamiento de datos de abundancia o biomasa de especies (Uehara-Prado et al., 2009). Esta técnica multivariante permite representar gráficamente las muestras en un número específico de dimensiones,

basándose en una matriz de similitud. A través del valor del *stress* se puede medir la adecuación de la representación MDS:

- $stress < 0,05$ indica que la representación es excelente;
- $stress < 0,1$ corresponde a una buena representación;
- $stress < 0,2$ indica una representación potencialmente útil;
- $stress > 0,2$ revela que los puntos están representados casi arbitrariamente en el espacio 2D.

Posteriormente, se ha realizado un análisis SIMPER (*SIMilarity PERcentage breakdown*) para obtener el porcentaje de contribución de los diferentes taxones en la discriminación de los grupos.

1.5.3.3. Índice global de calidad del suelo (GISQ)

El *General Indicator of Soil Quality* (GISQ), propuesto por Velásquez et al. (2007), es un indicador de la calidad del suelo que permite identificar cualquier problema en el funcionamiento del suelo y evaluar la sostenibilidad de los sistemas de uso de la tierra. En su versión original, desarrollada para diferentes agroecosistemas en Colombia, se ha calculado un conjunto de subindicadores, que después se han combinado en dicho indicador global. Aunque la fórmula GISQ presentada por sus autores sea válida solamente en una escala regional, la metodología utilizada para su creación puede ser aplicada en cualquier parte (Velásquez et al., 2007).

Para crear la fórmula del GISQ adaptada a la situación estudiada (diferentes tipos de fertilización en pradera), se han utilizado los datos obtenidos en el primer muestreo del Ensayo Dirigido (mayo de 2004). Se ha empezado por calcular los tres subindicadores, comunes a los utilizados por Velásquez et al. (2007) (Macrofauna, Químico y Materia Orgánica), siguiendo las siguientes etapas:

1. Para cada conjunto de datos de macrofauna, parámetros químicos y materia orgánica se hizo un ACP para discriminar grupos entre los diferentes tratamientos utilizados, recurriendo al programa ADE-4 (Thioulouse et al., 1997).
2. A continuación, se han seleccionado las variables considerando sus contribuciones

absolutas para la formación de los dos ejes del círculo de correlación.

- Después, los valores de la mayoría de las variables seleccionadas han sido reducidos aplicando la siguiente fórmula:

$$Y = 0,1 + (x - b) / (a - b) * 0,9 \text{ (Velásquez et al., 2007),}$$

donde Y es el valor de la variable después de transformada, x es la variable a transformar, a es el máximo valor de la variable y b es el mínimo valor de la variable. Para el A1, cuyo valor se incrementa en suelos de baja calidad, la fórmula utilizada ha sido:

$$Y = 1,1 - (0,1 + (x - b) / (a - b) * 0,9) \text{ (Velásquez et al. 2007).}$$

- El valor de cada subindicador se ha obtenido sumando todas las variables reducidas multiplicadas por su respectivo peso en la determinación de los ejes X e Y del círculo de correlación. Se ha determinado el valor máximo y el valor mínimo del subindicador en el conjunto de las réplicas y se han reducido los valores obtenidos, utilizando la fórmula indicada anteriormente, para obtener valores entre 0,1 y 1.

Para obtener la fórmula del indicador se han ejecutado las siguientes etapas:

- Se ha construido una matriz con los valores de los tres subindicadores y se ha realizado un nuevo ACP. De esta forma se ha obtenido la contribución de cada subindicador para la construcción de cada eje y la inercia total de los dos ejes principales.
- Para cada subindicador, se ha multiplicado su contribución para la construcción de los ejes por la inercia total y se han adicionado los valores obtenidos (Contribución F1 * Inercia F1 + Contribución F2 * Inercia F2).
- Finalmente, el valor obtenido para cada subindicador se ha dividido por 1000 para obtener los coeficientes (a , b y c) de cada subindicador en la fórmula final:

$$\text{GISQ} = a \text{ Macrofauna} + b \text{ Químico} + c \text{ MO.}$$

Para comprobar la sensibilidad del índice a la escala temporal, se ha aplicado la fórmula obtenida a los datos de los diferentes muestreos del mismo ensayo. El procedimiento ha consistido en multiplicar el valor de cada subindicador por el coeficiente obtenido en su formulación y, finalmente, en adicionar y reducir los productos en cada réplica.

A continuación, para determinar la sensibilidad del índice a la escala espacial, se ha aplicado la fórmula creada a los datos obtenidos en los dos muestreos realizados en las Parcelas Monitorizadas.

Se ha realizado un análisis de varianza (ANOVA) siguiendo los procedimientos anteriormente explicados.

2. Bioensayos

Se han realizado dos bioensayos para demostrar la respuesta de los organismos del suelo a la fertilización con diferentes residuos orgánicos. En el primer experimento se han realizados test de comportamiento de fuga con lombrices y colémbolos, utilizando los suelos de las Parcelas Monitorizadas descritas anteriormente. El segundo experimento ha consistido en un test de enriquecimiento donde se han utilizado el lodo, el purín y el estiércol, caracterizados anteriormente, en dosis crecientes para evaluar parámetros fisiológicos (mortalidad y variación del peso corporal) y la bioacumulación en lombrices.

2.1. Test de fuga

2.1.1. Parcelas de estudio y muestreo

Se han utilizado las Parcelas Monitorizadas (C1, C2, L1, L2, L3, y L4) y la parcela de monte (zona de referencia), descritas en el apartado 1.3. de este capítulo. Las muestras de suelo han sido tomadas en marzo de 2007 a una profundidad de hasta 15 cm.

2.1.2. Análisis físico-químicos

Se han realizado los análisis físico-químicos según la metodología indicada en el apartado 1.4.1. de los Experimentos de Campo. A mayores se ha determinado la textura de los suelos por el método de la sedimentación discontinua (Gutián y Carballas, 1976 modificado), la capacidad de retención de agua (ISO, 1998) y los metales pesados (cuantificados por absorción atómica después de digestión en HNO₃) (US EPA, 1995).

2.1.3. Test de fuga

2.1.3.1. Test de fuga con lombrices y colémbolos

Los test de fuga con lombrices de la especie *Eisenia fetida* se han realizado siguiendo la norma ISO 17512-1 (ISO, 2008) y los test de fuga con colémbolos de la especie *Fosslomia candida* han sido realizados siguiendo la norma ISO/CD 17512-2 (ISO, 2007).

Los organismos utilizados han sido obtenidos a partir de cultivos de laboratorio y mantenidos a una temperatura constante de 20 °C.

Las lombrices se han criado en un sustrato de estiércol de caballo (previamente desfaunado a través de un ciclo de congelación y descongelación) y turba, con pH entre 5 y 6, cuya alimentación se ha complementado semanalmente con papilla de avena (ISO, 1999). Los individuos utilizados en los test tenían el clitelo totalmente desarrollado.

Los colémbolos han sido cultivados en recipientes de plástico en un medio con una mezcla de carbón activado y yeso (Figura II-7b). Han sido alimentados una vez a la semana con levadura. Los individuos utilizados en los test tenían entre diez y doce días habiendo sido obtenidos de cultivos sincronizados.

2.1.3.2. Condiciones experimentales

Para realizar los test de fuga las muestras de suelo se han secado al aire y después se tamizaron a 5 mm. Antes de la realización de los test, se han humedecido los suelos a 50 % de la capacidad de retención de agua. De acuerdo con la norma, se ha determinado el pH y la humedad del suelo al principio y al final de los test.

En los test de fuga con lombrices se han utilizado recipientes plásticos rectangulares (l: 20 cm; w: 12 cm; h: 5 cm) (Figura II-6b) y en los que se utilizaron colémbolos han sido realizados en recipientes de plástico cilíndricos (Ø: 7 cm; h: 6 cm) (Figura II-7a).

En ambos casos, los recipientes se han dividido al medio con una pieza plástica de separación y se han llenado las dos secciones con diferentes suelos. Se han utilizado 200 g de cada suelo en el test de lombrices y 30 g de cada suelo (en peso seco) en el test de colémbolos. Después de extraer la pieza de plástico, se han añadido diez lombrices (Figura II-6a) o veinte

colémbolos (Figura II-7b) en el centro del recipiente y se han mantenido a 20 °C (Figura II-7c).

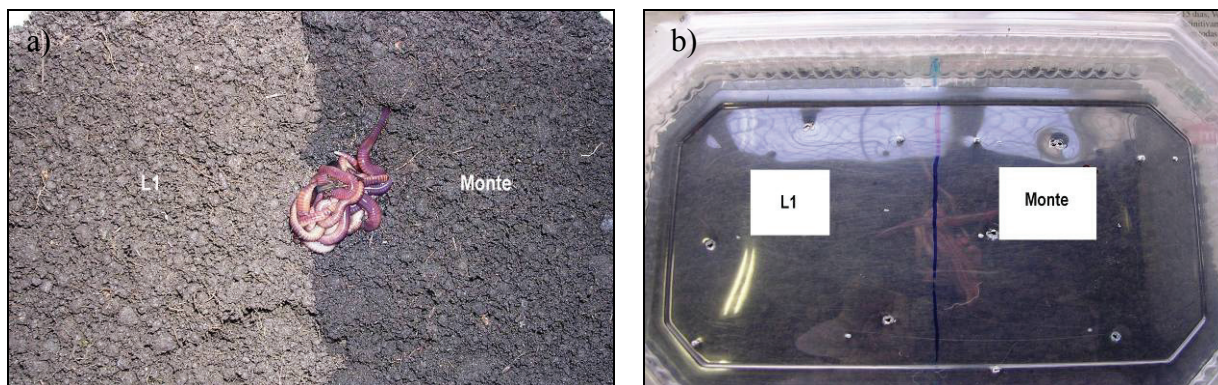


Figura II-6. Test de fuga con lombrices: a) antes y b) después del cierre del recipiente.

L1: suelo de una parcela agrícola fertilizada con lodos desde mayo de 2004. Monte: suelo utilizado como referencia,

Pasadas 48 h, se volvió a colocar la separación en el centro de cada recipiente y se ha registrado el número de individuos en cada sección. En el test con lombrices, los organismos encontrados en la línea de la separación se han considerado como 0,5 individuos. Para la lectura del test de colémbolos el suelo de una de las secciones ha permanecido en el recipiente, mientras que el restante ha sido transferido para otro recipiente y se ha añadido agua y algunas gotas de tinta para crear contraste y posibilitar la contabilización del número de colémbolos que han aparecido en la superficie del agua (Figura II-7d).

Se han realizado cinco réplicas para cada una de las siguientes combinaciones contrastadas:

- a) todas las parcelas fertilizadas (L y C) vs. monte (Mte),
- b) parcelas fertilizadas con lodo vs. parcelas fertilizadas de manera convencional con purín y fertilizantes químicos (L1 vs C1 y L2 vs C2) (se ha utilizado como criterio la proximidad geográfica entre las dos parcelas combinadas para que las características físico-químicas del suelo sean más homogéneas),
- c) parcela con la última aplicación de lodos en verano (julio de 2006) vs. parcela fertilizada con lodo y purín con la ultima aplicación de lodo en otoño (noviembre de 2006) (L3 vs L4).

Se ha considerado como “suelo control” en a) el suelo monte (Mte), en b) el suelo de las parcelas fertilizadas convencionalmente (C1 y C2) y en c) el suelo en donde los lodos han tenido más tiempo de maduración (L3).

2.1.4. Análisis estadístico

Para evaluar el efecto de los diferentes planes de fertilización en las características químicas del suelo se ha realizado un ANOVA, siguiendo los procedimientos ya descritos, considerando como factor fijo cada una de las parcelas. Se ha estimado la significación de la correlación de Pearson entre las características químicas y, de entre las variables correlacionadas con $r > 80\%$, se han seleccionado las que presentaron comunales superiores para hacer el ACP, que ha permitido agrupar las diferentes parcelas utilizando un número más reducido de variables.



Figura II-7. Test de fuga con colémbolos: a) pesando los suelos, b) succión de los colémbolos de su medio de cultivo, c) incubación, d) contabilización de los colémbolos.

Los resultados de los test de fuga se han analizado utilizando el test de Fisher (Zar, 1996). Este test estadístico se basa en una comparación de la distribución observada de los individuos con una distribución teórica, asumiendo la respuesta de no-fuga como hipótesis nula. Para los test de fuga se utiliza una hipótesis unilateral (*one-tailed*), pues solamente se puede considerar una respuesta de fuga (Natal-da-Luz et al., 2004). En este caso, la hipótesis nula (descartada para $p > 0,05$) considera que la mitad de los organismos permanece en el suelo analizado, indicando la ausencia de una respuesta de fuga para este suelo.

2.2. Test del efecto de dosis crecientes en lombrices

En este test, se han sometido las lombrices a dosis crecientes de los diferentes residuos orgánicos para evaluar su comportamiento respecto a:

- Mortalidad,
- Variación del peso corporal,
- Bioacumulación.

2.2.1. Características del suelo control

El suelo utilizado en este test fue extraído del horizonte superior (0-15 cm) de una parcela abandonada desde por lo menos hace cincuenta años, donde antiguamente se sembraba trigo. En el laboratorio se han determinado su humedad y capacidad de retención de agua (ISO, 1998). Se ha dejado secar al aire y se ha tamizado a 2 mm una muestra de 500 g para determinar las características químicas (pH H₂O, pH KCl, C, N, P, Ca, Mg, Na, K, Al y metales pesados), de acuerdo con los métodos explicados en los apartados 1.4.1. y 2.1.2. Las características químicas del suelo se presentan en la Tabla II-4.

Antes de preparar las mezclas suelo-residuo, se ha dejado secar el suelo hasta alcanzar 60 % de su capacidad de retención de agua y se ha tamizado a 3,15 mm.

2.2.2. Condiciones experimentales

Los residuos utilizados en estos test fueron el Purín (P), el Lodo (L) y el Biof (B) anteriormente descritos y sus características en el momento de realización del bioensayo están resumidas en la Tabla II-4.

Tabla II-4. Caracterización del suelo y de los residuos orgánicos utilizados en los test con dosis crecientes.

Parámetro	unidades	Suelo	unidades	Biof (B)	Lodo (L)	Purín (P)
pH H ₂ O		5,05		6,11	5,98	6,78
pH KCl		4,26				
CE	mS cm ⁻¹				6,32	4,37
C	%	7,29	%	41,70	47,00	41,60
N	%	0,56	%	4,21	7,27	2,60
C/N		12,97		9,90	6,46	16,00
P	mg kg ⁻¹	8,37	%	1,27	1,85	0,85
Ca ²⁺	cmol _c kg ⁻¹	0,22	%	1,03	2,64	2,13
Mg ²⁺	cmol _c kg ⁻¹	0,12	%	0,51	0,34	0,50
Na ⁺	cmol _c kg ⁻¹	0,45	%	1,02	3,94	2,44
K ⁺	cmol _c kg ⁻¹	0,72	%	2,62	4,99	13,19
Al ³⁺	cmol _c kg ⁻¹	2,29	%	7,18	9,73	14,62
Saturación en Al	%	60,34				
CIC _c		3,80				
Cr	mg kg ⁻¹	16,40	mg kg ⁻¹	1,53	10,15	4,05
Cu	mg kg ⁻¹	10,75	mg kg ⁻¹	57,55	19,95	25,25
Cd	mg kg ⁻¹	0,00	mg kg ⁻¹	0,33	0,00	0,00
Pb	mg kg ⁻¹	16,50	mg kg ⁻¹	1,25	5,50	3,00
Zn	mg kg ⁻¹	20,83	mg kg ⁻¹	315,85	98,05	296,59
Ni	mg kg ⁻¹	16,40	mg kg ⁻¹	2,43	7,00	6,65
Σ metales pesados	mg kg ⁻¹	80,88	mg kg ⁻¹	378,94	140,65	335,54
Materia seca			%	89,49	2,39	1,70
WHC	%	67,75				

CE- conductividad eléctrica. CIC_c- capacidad de intercambio catiónico efectiva. WHC- capacidad de retención de agua.

Se utilizaron lombrices de la especie *E. fetida*, de un suministrador comercial (Asturhumus, Oviedo). Antes de empezar el ensayo se han aclimatado las lombrices poniéndolas en la oscuridad a una temperatura constante de 12 °C durante dos semanas y añadiendo suelo control al sustrato donde venían las lombrices.

Cada unidad experimental ha consistido en recipientes de plástico de 250 ml llenados con 100 g (en peso seco) de la mezcla suelo-residuo, considerando la densidad del suelo $1,5 \text{ g cm}^{-3}$ y asumiendo que los residuos serían incorporados a una profundidad de 5 cm.

Para cada residuo se han preparado ocho réplicas de cinco concentraciones: 0,1 % (P_{01} , L_{01} , B_{01}); 0,25 % (P_{025} , L_{025} , B_{025}); 0,5 % (P_{05} , L_{05} , B_{05}); 1 % (P_1 , L_1 , B_1) y 5 % (P_5 , L_5 , B_5) (en peso seco) de residuo en la mezcla con suelo control. La concentración de 10 % solo se ha preparado para la mezcla con Biof (B_{10}), debido al elevado contenido de agua del Purín y del Lodo (Tabla II-4). Se han establecido un total de ciento treinta y seis unidades experimentales: 3 residuos x 5 dosis x 8 réplicas + B_{10} x 8 réplicas + Control x 8 réplicas). Las dosis correspondientes a estas concentraciones de residuos fueron: 800, 2000, 4200, 8400, 42000 y 84000 kg ha^{-1} para el Biof; 30, 80, 150, 300 y 1500 $\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$ para el Lodo y 40, 110, 220, 440 y 2200 $\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$ para el Purín. Las concentraciones aproximadas a las dosis de residuos utilizadas en el Ensayo Dirigido han sido: P_{01} , L_{025} y B_{05} .

Antes de empezar el experimento, se han sacado las lombrices del recipiente de aclimatación, se han lavado con agua destilada, secado y pesado. La media y la desviación típica del peso de las lombrices utilizadas en este experimento han sido $0,343 \pm 0,058 \text{ g}$.

Se ha añadido una lombriz madura (clitelada) a cada recipiente (Figura II-8a). Se han mantenido los recipientes en la oscuridad, a 12°C , durante veintiocho días. No se ha añadido alimento a las lombrices durante todo el experimento. Los recipientes fueron cerrados con una tapa transparente, para evitar pérdidas de agua por evaporación y para prevenir que las lombrices se escapen.

Semanalmente, se ha registrado la mortalidad y las lombrices vivas se han lavado con agua destilada, secado con papel absorbente y pesado. Las variaciones de peso corporal se han determinado con respecto al peso inicial. Al mismo tiempo, cada recipiente ha sido pesado y se ha añadido agua destilada para compensar posibles pérdidas de agua.

Al final del experimento se han sacado las lombrices para placas petri ($\varnothing=12 \text{ cm}$) con papel de filtro ALBET® (\varnothing poro = $7-11 \mu\text{m}$) embebido en agua destilada durante 24 h a 12°C para eliminar el contenido gástrico (Arnold y Hodson, 2007) (Figura II- 8b). Se cambió el papel de filtro a las 12 h para evitar coprofagia. Pasadas las 24 h, se lavaron las lombrices con agua destilada, se secaron con papel absorbente y se colocaron en tubos. Se agruparon las lombrices para obtener dos tubos por tratamiento, excepto para el Control donde solo

quedaban dos lombrices vivas y para el L₅ donde ya no quedaban lombrices. Se colocaron los tubos en el congelador a -18 °C. Se han descongelado para hacer la analítica secando las lombrices en la estufa a 40 °C durante una noche en papel de filtro ALBET® (Ø poro = 7-11 µm). Se cortaron en trozos pequeños y se pesaron 0,5 g para digerir en 10 ml de ácido nítrico utilizando la presión para realizar el ataque. Se ha utilizado el tejido estándar de mejillón (ERM-CE278) de LGC *Standards* como sustancia de referencia de la que se hicieron tres repeticiones. Se pasaron las digestiones obtenidas para tubos de propileno para posteriormente hacer las mediciones con ICP-OES. Las concentraciones de elementos se han expresado en mg kg⁻¹ de peso seco.

Las mezclas suelo-residuo han sido agrupadas, secadas al aire y tamizadas a 2 mm para analizar las propiedades químicas con los mismos métodos que se ha utilizado para analizar el suelo control.

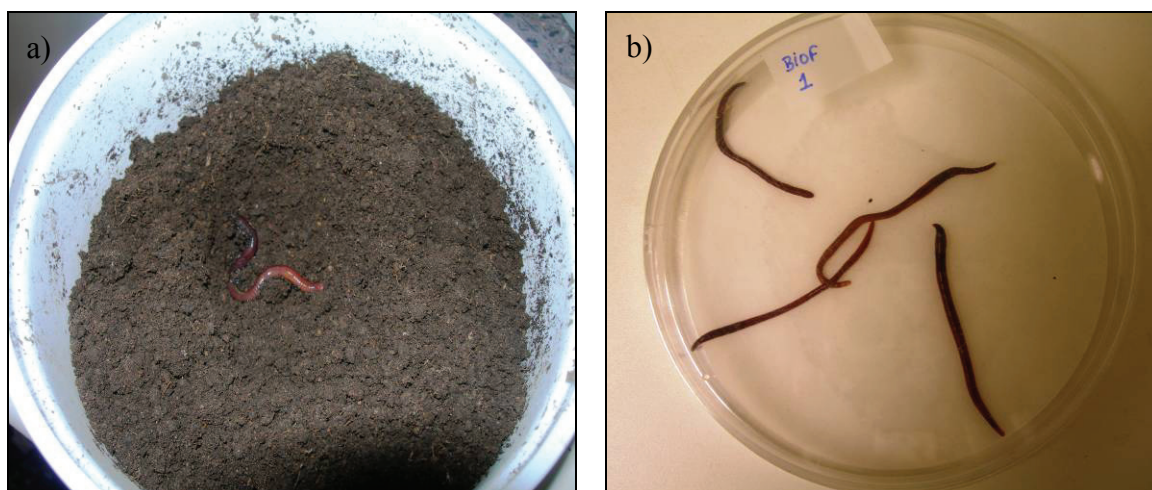


Figura II-8. Test con dosis crecientes: a) ejemplo de uno de los recipientes con la mezcla suelo-residuo y una lombriz, b) depuración de las lombrices.

2.2.3. Tratamiento de los datos

Se ha calculado el porcentaje de mortalidad acumulado para cada tratamiento.

Para determinar la variación del peso corporal, el valor de referencia ha sido siempre el que se había medido inicialmente ($t=0$). Para cada residuo, se hizo un ANOVA de dos factores para evaluar la interacción entre los datos de variación del peso corporal, la concentración

estudiada y el tiempo de exposición. Para cada tiempo de exposición, se han comparado las medias de la variación del peso corporal en las diferentes dosis de residuo utilizando los test de la Diferencia Mínima Significativa (DMS) o el test de Games-Howell (para varianzas no homogéneas).

Posteriormente, se han establecido las relaciones de la variación del peso corporal y la concentración de nutrientes en el tejido con las concentraciones de residuos estudiadas a través de regresiones lineales múltiples.

Las características químicas de las mezclas suelo-residuo han sido sometidas a un ANOVA, siguiendo los procedimientos ya descritos. En este caso, para poder comparar directamente las medias de los valores obtenidos en las mezclas con el suelo control, se ha utilizado el test de Dunnett para $p < 0,05$. Para comparar las concentraciones de metales pesados en los tejidos de las lombrices sometidas a las mezclas y al suelo control se ha recurrido al test t, pues sólo se disponía de dos replicas.

Se han realizado correlaciones de Pearson (r) entre la saturación en Al (en el suelo control y en las mezclas) y los demás parámetros químicos medidos. Para determinar si la concentración en el tejido dependía directamente de la concentración en el suelo, se han determinado para cada parámetro las correlaciones entre el valor medido en el suelo y el valor determinado en el tejido de las lombrices.

El Factor de Bioacumulación (BF) se ha determinado en cada tratamiento para los metales pesados, así como, la relación entre la concentración de los metales pesados en el tejido de las lombrices y la concentración en las mezclas suelo-residuo.

III. Resultados y Discusión

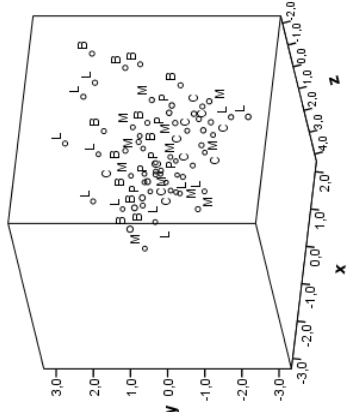
1. Efecto en los parámetros químicos del suelo, en la productividad y en la composición botánica del forraje

En este primer apartado de presentación y discusión de resultados, se comienza por exponer los resultados obtenidos para los parámetros químicos del suelo. Recurriendo a los datos de las analíticas químicas realizadas en los tres primeros años del Ensayo Dirigido (2002-2004), se ha buscado estudiar de que forma los residuos orgánicos utilizados han afectado diferentes parámetros químicos del suelo. Se ha enfocado la discusión hacia los parámetros relacionados con la acidez, ya que la misma constituye un problema en la mayoría de los suelos gallegos. A continuación, se exponen los datos obtenidos para la productividad y composición botánica del forraje obtenido a lo largo de tres años. De esta forma, se ha pretendido evaluar si el efecto de los residuos orgánicos en las características químicas del suelo se ha traducido en mejoras en la productividad.

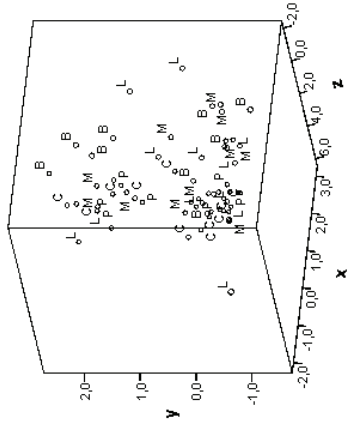
1.1. Evolución de los parámetros del suelo

La aplicación, durante tres años consecutivos, de distintos materiales fertilizantes (orgánicos y minerales) no ha provocado cambios en las características del suelo susceptibles de diferenciar los diferentes tratamientos (Figura III-1.1). Como se observa en las matrices de componentes rotados, los parámetros químicos seleccionados en el Análisis de Componentes Principales (ACP) son diferentes en cada año, indicando una importante variabilidad temporal. Como se puede observar también en los resultados del ANOVA de dos vías presentados en la Tabla III-1.1, el factor tiempo influyó significativamente en todos los parámetros edáficos analizados ($p < 0,001$). Sin embargo, analizando individualmente para cada fecha de muestreo el efecto del tratamiento fertilizante, se ha verificado que el ANOVA ha sido significativo ($p < 0,05$) como mínimo en el 50 % de los muestreos realizados para los siguientes parámetros del suelo: pH H₂O, pH KCl, magnesio (Mg), sodio (Na), potasio (K) y aluminio (Al) de cambio y saturación en Al (%). Así, muchos de los parámetros relacionados con la acidez han sufrido una evolución distinta en función del material utilizado para fertilizar el suelo.

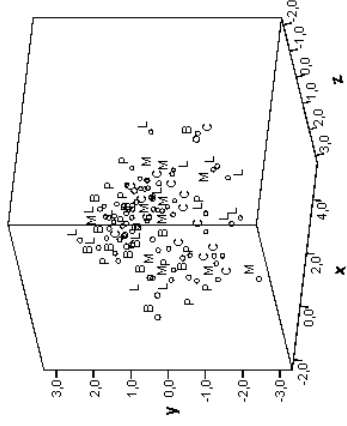
2002



2003



2004



Varianza total explicada 2002

Componente	Autovalores iniciales	% acumulado de la varianza
x	2,667	26,666
y	2,431	50,972
z	1,625	67,223

Matriz de componentes rotados

	x	y	z
pH H ₂ O	0,872	0,077	0,036
pH KCl	0,862	0,218	-0,086
K ⁺	-0,716	0,196	0,020
C (%)	0,058	0,882	-0,042
Mg ²⁺	0,211	0,755	0,125
sat Al (%)	0,202	-0,741	-0,065
C/N	0,320	0,140	0,807
P	-0,269	0,078	0,763

Varianza total explicada 2003

Componente	Autovalores iniciales	% acumulado de la varianza
x	3,176	39,702
y	1,628	60,057
z	1,191	74,941

Matriz de componentes rotados

	x	y	z
Mg ²⁺	0,843	0,142	0,297
Ca ²⁺	0,831	0,185	0,217
C (%)	0,811	0,038	-0,190
pH KCl	0,674	-0,070	0,394
C/N	0,029	0,907	-0,153
Na ⁺	0,159	0,890	0,190
P	0,103	-0,137	0,815
K ⁺	0,174	0,189	0,797

Varianza total explicada 2004

Componente	Autovalores iniciales	% acumulado de la varianza
x	4,459	55,733
y	1,388	73,086
z	0,619	80,824

Matriz de componentes rotados

	x	y	z
P	0,834	0,305	0,127
Na ⁺	0,732	0,402	-0,167
K ⁺	0,709	0,162	0,517
Mg ²⁺	0,607	0,490	0,480
N (%)	0,325	0,841	0,267
C/N	-0,290	-0,836	0,285
sat Al (%)	-0,374	-0,626	-0,496
pH H ₂ O	0,033	-0,029	0,880

Figura III-1.1. Gráficos de dispersión, varianzas totales explicadas por tres componentes y matriz de componentes rotados para los parámetros químicos del suelo en 2002 (n=60), 2003 (n=60) y 2004 (n=80).
C: Control. M: Mineral. P: Purín. L: Lodo. B: Biof. sat Al: saturación en aluminio.

Tabla III-1.1. Evolución de los parámetros químicos en los distintos tratamientos y en todos los muestreos.

Parámetro	Año 2002			Año 2003			Año 2004			ANOVA			
	mar	may	nov	mar	may	jul	mar	may	jul	nov	T	Tr	T x Tr
<u>pH H₂O</u>													
Control	5,61 a	5,04 a	5,83 a	5,18 a	4,96 ab	5,70 a	5,11 ab	5,38 a	5,20 a	5,41 a			
Mineral	5,77 a	4,90 a	6,07 a	5,45 a	5,31 c	5,85 ab	5,18 b	5,31 a	5,26 a	5,41 a	***	***	***
Purín	5,70 a	4,90 a	5,97 a	5,14 a	4,89 a	5,59 a	5,04 a	5,30 a	5,27 a	5,45 a			
Lodo	5,74 a	4,92 a	6,10 a	5,27 a	5,14 bc	5,67 a	5,17 b	5,32 a	5,32 a	5,43 a			
Biof	5,60 a	5,60 b	6,08 a	5,52 a	5,67 d	6,06 b	5,17 b	5,35 a	5,66 b	5,33 a			
<u>pH KCl</u>													
Control	4,23 a	4,38 ab	4,76 a	4,43 a	4,11 a	4,89 a	4,17 a	4,25 a	4,27 a	4,18 a			
Mineral	4,40 a	4,32 ab	4,84 a	4,65 a	4,55 ab	5,12 ab	4,26 ab	4,37 ab	4,40 a	4,29 a	***	***	ns
Purín	4,39 a	4,25 a	4,83 a	4,62 a	4,12 a	4,96 a	4,23 ab	4,40 b	4,37 a	4,24 a			
Lodo	4,39 a	4,39 ab	4,95 a	4,55 a	4,30 ab	4,95 ab	4,28 ab	4,35 ab	4,38 a	4,19 a			
Biof	4,67 b	4,67 b	5,42 b	4,68 a	4,62 b	5,31 b	4,39 b	4,48 b	4,72 b	4,49 b			
<u>sat. Al (%)</u>													
Control	33,71 b	23,78 a	51,43 a	40,51 b	61,37 b	37,59 b	52,87 b	49,00 b	32,79 b	57,53 b			
Mineral	22,49 ab	30,55 b	37,39 a	27,32 ab	27,41 a	21,09 ab	41,47 ab	40,16 ab	25,07 b	41,94 b	***	***	ns
Purín	17,77 a	39,98 c	37,47 a	26,21 ab	52,78 b	37,14 b	45,65 ab	34,39 ab	26,50 b	46,37 b			
Lodo	33,32 b	24,15 ab	40,12 a	32,71 ab	29,51 a	24,32 ab	38,72 ab	36,34 ab	21,21 ab	40,58 ab			
Biof	19,00 ab	19,92 a	30,98 a	16,76 a	19,05 a	8,45 a	30,56 a	27,20 a	5,36 a	21,56 a			
<u>CIC_e</u>													
Control	3,97 a	3,82 a	3,58 a	5,43 a	4,02 a	4,66 a	4,42 a	4,77 a	5,04 a	3,67 a			
Mineral	4,82 a	4,31 a	3,69 a	5,88 a	5,57 a	5,75 a	4,63 a	5,03 a	5,50 a	3,94 a	***	***	ns
Purín	4,77 a	4,32 a	3,63 a	5,29 a	3,90 a	4,40 a	4,39 a	4,93 a	4,68 a	3,56 a			
Lodo	6,00 a	4,73 a	4,08 a	5,87 a	5,11 a	5,36 a	4,86 a	5,36 a	5,15 a	4,17 a			
Biof	5,08 a	5,06 a	4,49 a	7,92 a	4,99 a	5,61 a	4,43 a	5,03 a	6,39 a	4,30 a			
<u>Ca²⁺ (cmol_e kg⁻¹)</u>													
Control	1,95 a	1,88 a	0,87 a	2,28 a	1,10 a	2,01 a	1,40 a	1,75 a	2,41 a	1,02 a			
Mineral	3,03 a	2,02 a	1,33 a	3,36 ab	3,66 ab	3,92 ab	2,03 a	2,31 ab	3,26 ab	1,65 ab	***	***	ns
Purín	3,11 a	1,68 a	1,08 a	2,89 a	1,34 a	2,05 a	1,79 a	2,49 ab	2,62 a	1,44 ab			
Lodo	2,84 a	2,35 ab	1,35 a	3,10 ab	2,93 ab	3,08 ab	2,25 a	2,51 ab	3,20 ab	1,91 bc			
Biof	3,04 a	3,04 b	2,30 b	5,11 b	3,24 b	4,01 b	2,16 a	2,64 b	4,04 b	2,54 c			
<u>Mg²⁺ (cmol_e kg⁻¹)</u>													
Control	0,18 a	0,31 a	0,24 a	0,27 a	0,16 a	0,31 a	0,25 a	0,25 a	0,36 a	0,16 a			
Mineral	0,25 ab	0,32 a	0,35 a	0,35 a	0,37 ab	0,39 ab	0,28 a	0,32 ab	0,43 a	0,24 a	***	***	***
Purín	0,13 a	0,24 a	0,34 a	0,31 a	0,18 a	0,25 a	0,23 a	0,28 a	0,30 a	0,17 a			
Lodo	0,44 ab	0,49 b	0,44 a	0,37 ab	0,42 ab	0,43 b	0,34 ab	0,40 ab	0,41 a	0,26 ab			
Biof	0,47 b	0,47 b	0,43 a	0,69 b	0,29 b	0,69 ab	0,47 b	0,55 b	1,02 b	0,41 b			
<u>Na⁺ (cmol_e kg⁻¹)</u>													
Control	0,20 a	0,19 a	0,30 a	0,45 a	0,13 a	0,19 a	0,28 a	0,25 a	0,29 a	0,15 a			
Mineral	0,20 a	0,20 ab	0,29 a	0,43 a	0,14 a	0,16 a	0,26 a	0,26 a	0,28 a	0,20 a	***	***	***
Purín	0,23 a	0,19 a	0,56 b	0,48 a	0,15 a	0,22 a	0,26 a	0,28 ab	0,32 a	0,14 a			
Lodo	0,24 a	0,22 ab	0,32 a	0,46 a	0,19 b	0,31 a	0,28 a	0,33 b	0,34 ab	0,18 a			
Biof	0,24 a	0,24 b	0,18 a	0,60 b	0,21 b	0,21 a	0,27 a	0,23 a	0,39 b	0,18 a			
<u>K⁺ (cmol_e kg⁻¹)</u>													
Control	0,35 a	0,54 b	0,32 a	0,24 a	0,17 a	0,39 b	0,16 bc	0,19 ab	0,34 ab	0,21 ab			
Mineral	0,35 a	0,46 b	0,33 a	0,26 a	0,18 a	0,28 ab	0,14 ab	0,18 a	0,22 a	0,19 a	***	**	***
Purín	0,47 ab	0,48 b	0,29 a	0,22 a	0,17 a	0,25 a	0,14 ab	0,19 ab	0,28 a	0,18 a			
Lodo	0,60 b	0,52 b	0,30 a	0,21 a	0,17 a	0,27 ab	0,13 a	0,20 ab	0,19 a	0,19 a			
Biof	0,39 ab	0,33 a	0,23 a	0,33 a	0,30 a	0,24 a	0,18 c	0,24 b	0,59 b	0,26 b			
<u>P (mg kg⁻¹)</u>													
Control	6,30 ab	6,78 a	7,63 b	4,62 ab	3,85 a	5,40 a	5,60 a	5,28 a	11,80 a	3,14 ab			
Mineral	8,48 ab	11,29 b	7,58 b	4,40 a	4,57 ab	6,67 a	6,03 a	6,24 a	14,38 ab	2,91 a	***	***	**
Purín	8,63 ab	6,32 a	9,04 b	4,26 a	4,30 ab	6,25 a	5,97 a	5,07 a	8,08 a	3,00 a			
Lodo	9,09 b	10,37 b	7,60 b	6,25 ab	5,85 ab	16,98 b	6,61 a	8,95 b	12,54 ab	5,32 c			
Biof	5,73 a	12,45 b	5,62 a	6,61 b	6,35 b	7,81 a	5,83 a	7,48 ab	16,62 b	4,61 bc			

Las tres últimas columnas indican los resultados del test F de la ANOVA de 2 vías para el conjunto de datos. Para cada parámetro y para cada fecha, letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$) según el test DMS o Games-Howell. Sat. Al: saturación en Al; CIC_e: capacidad de intercambio catiónico efectiva. T: tiempo, Tr: tratamiento. ns: no significativo, *: significativo, **: muy significativo, ***: altamente significativo. n=4.

Las diferencias iniciales observadas en los parámetros edáficos se han debido al encalado inicial (octubre 2001), cuyo efecto fue visible un año después de su aplicación, cuando el pH H₂O del suelo se incrementó a valores próximos a seis, aunque no se haya destacado ninguna estrategia de fertilización en el primer año de estudio. A partir de noviembre del 2002, el mantenimiento, o no, del efecto encalante fue debido a las diferentes estrategias de fertilización utilizadas. Después de marzo de 2003, y en casi todos los muestreos, las parcelas abonadas con Biof presentaron un pH H₂O y un pH KCl significativamente superiores a las demás parcelas. El incremento del pH en los suelos de las parcelas abonadas con residuos orgánicos se debe al elevado pH de los residuos utilizados (Tabla II-1). De hecho, diversos trabajos han señalado el valor de pH de los abonos como el responsable por el incremento del mismo en el suelo en donde son aplicados. El Biof ha producido un incremento superior de los valores de pH del suelo comparado con los demás tratamientos. Este resultado coincide con el de Kingery et al. (1993) que observaron, en pastizales de festuca, que las parcelas abonadas con estiércol de aves de corral produjeron un aumento de pH frente a las parcelas abonadas con fertilizantes comerciales.

La Tabla III-1.2 presenta los coeficientes de correlación (r) entre la saturación en Al y el pH H₂O, el pH KCl y la producción de forraje (materia seca -MS-) para cada mes de muestreo. De todos los parámetros edáficos analizados, la saturación en Al y los pH han sido aquellos que se han correlacionado de forma significativa y con $r > 0,80$ ($n=20$, $p < 0,05$) en más muestreos.

Tabla III-1.2. Correlación entre saturación en Al y pH H₂O, pH KCl y productividad de forraje en todos los muestreos.

Parámetro	Saturación en Al (%)									
	mar-02	may-02	nov-02	mar-03	may-03	jul-03	mar-04	may-04	jul-04	nov-04
<u>pH H₂O</u>										
r	-0,601	-0,609	-0,310	-0,786	-0,809	-0,852	-0,635	0,157	-0,885	-0,090
sign.	0,005	0,004	0,184	0,000	0,000	0,000	0,003	0,508	0,000	0,706
<u>pH KCl</u>										
r	-0,738	-0,673	-0,346	-0,823	-0,877	-0,872	-0,931	-0,916	-0,927	-0,788
sign.	0,000	0,001	0,135	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<u>Productividad (% MS)</u>										
r		0,193	0,115		-0,486	-0,507		-0,400	-0,715	
sign.		0,415	0,629		0,030	0,022		0,080	0,000	

r: coeficiente de correlación; sign.: significación bilateral de la correlación de Pearson ($p < 0,05$). MS- materia seca. $n=20$.

El análisis estadístico ha revelado coeficientes de correlación negativos entre estos parámetros para la mayoría de los casos. La saturación en Al ha disminuido su concentración en el suelo en respuesta al aumento de pH inducido inicialmente por el encalado y más tarde por la aplicación de fertilizantes. El Al es el principal responsable de la baja fertilidad de los suelos ácidos, limitando fuertemente la producción a valores de pH inferiores a cinco (Foy, 1984). En Galicia, los suelos son ácidos como resultado de la existencia de un clima húmedo, un sistema sustrativo (“subtractive system”) y, con frecuencia, rocas de carácter ácido. Se trata de medios abiertos, donde la pérdida de los cationes básicos se produce durante la alteración del material de partida, incluso antes de que ocurran los procesos de edafogénesis (Macías et al., 1982; Macías, 1986). Los suelos de Galicia se caracterizan, además, por elevados contenidos de materia orgánica, con una alta capacidad de complejación de Al, de modo que en estos suelos predominan los complejos organoaluminicos de alta estabilidad (Álvarez et al., 1992; 2002). La saturación del complejo de cambio por Al en los suelos naturales de Galicia supera con frecuencia el 60 % (Álvarez et al., 2002; 2005), lo que les otorga un carácter álico.

La correlación negativa encontrada entre el pH y la saturación en Al del suelo fue observada por otros investigadores en ensayos de laboratorio (Mokolobate y Haynes, 2002b). La neutralización del aluminio ocurrió sobre todo en las parcelas fertilizadas y fue observada a partir de marzo de 2002. Desde esta fecha, y hasta mayo del 2003, apenas se han producido diferencias significativas para el pH en los distintos tratamientos. El descenso en el Al de cambio no depende sólo del incremento del pH. Haynes y Mokolobate (2001) indicaron que otros factores responsables de la disminución del Al de cambio son la complejación del mismo por la materia orgánica (MO) recién formada, por el material húmico soluble y por los ácidos orgánicos alifáticos. El hecho de que las diferencias observadas en los valores de saturación en Al hayan sido más claras que para el pH, sugieren que la saturación en Al puede ser un indicador más sensible de la calidad de suelos, en condiciones de acidez, que el pH. Conyers et al. (1991), en incubaciones de suelos encalados y sembrados con cebada, han concluido que el análisis de varias formas de Al (de cambio, total, monomérico y actividad de Al^{3+}) ha sido mejor indicador de la infertilidad en suelos ácidos que el análisis del pH. De hecho, la tendencia en lugares donde el encalado es caro o donde los suelos están altamente tamponados, es encalar para neutralizar el efecto tóxico del aluminio y no para alcanzar un determinado valor de pH (Kamprath, 1970; Fox, 1979; Farina et al., 1980). Para los suelos

gallegos, la determinación del encalado basada en los niveles de Al ha sido demostrada por Mombiela y Mateo (1984).

Toxicidad en Al y deficiencia de nutrientes

A lo largo de los tres años, el Biof ha sido el material que ha producido una mayor neutralización del aluminio del suelo. Estos resultados coinciden con los encontrados por Berek et al. (1995) y Hue (1992), los cuales evaluaron el efecto positivo de distintos materiales orgánicos en la corrección de la acidez de suelos ácidos dedicados a soja y a un cultivo forrajero.

El efecto de los residuos orgánicos sobre la acidez del suelo ha originado un incremento en los contenidos de nutrientes del suelo. En este trabajo, los cationes más afectados por la aplicación de fertilizantes fueron el calcio (Ca) y el Mg. El Ca fue el catión que más contribuyó a la capacidad de intercambio catiónico efectiva (CIC_e) en todos los muestreos y para todos los tratamientos (Tabla III-1.1). El orden de contribución de los demás cationes para la CIC_e ha variado según los tratamientos y la fecha de muestreo, pero en general fue la siguiente: Ca>Mg>K>Na. El Biof fue el tratamiento fertilizante que originó contenidos superiores de Ca, Mg y K, este último solo en 2004. El origen del Ca en el estiércol de pollo se debe a la ingesta de suplementos alimenticios de calcio por los pollos. La dieta de los pollos hace que su estiércol contenga gran cantidad de CaCO₃ (Sims y Wolf, 1994; Moore y Edwards, 2005). Los lodos también originaron elevados contenidos de Ca y Mg de cambio en el suelo.

Por otro lado, la aplicación de lodos de industria láctea no supuso un incremento del Na, como muchas veces es señalado en este tipo de lodos, debido al fuerte lavado que sufren los suelos de la zona (precipitación media anual: 1084 mm), como refiere López-Mosquera et al. (2000) para suelos del NO de España.

El fósforo (P) del suelo fue en general bajo, obteniéndose los valores más bajos a principios del año de producción (marzo) y después de los cortes del forraje. Mismo después del abonado, el suelo ha presentado niveles muy bajos de P, indicando una fuerte retención de este nutriente en el suelo, que pudo ser comprobada al dar positivo el test de Fieldes y Perrot⁶

⁶ Este test, que consiste en la medición del pH en una solución de fluoruro sódico (FNa), indica la existencia de retención de P.

(Fieldes y Perrot, 1966). Entre tratamientos, los que permitieron incrementar la disponibilidad de P en el suelo fueron el Lodo y el Biof. La riqueza en P de los residuos orgánicos utilizados ha sido la principal causa del aumento en la disponibilidad de P (Tabla II-1). Además, la relación C/P de los residuos orgánicos utilizados se ha presentado dentro de los límites indicados por Fageria et al. (2007) (Tabla II-1), lo que supone una rápida movilización del P de los residuos cuando estos son aplicados en el suelo. Haynes y Mokolobate (2001) han presentado otros mecanismos que explican la reducción de la adsorción del P por el suelo tras la aplicación de residuos orgánicos. Cuando se inicia la descomposición de los residuos, tiene lugar la adsorción de compuestos orgánicos que hace que baje la adsorción de P, incrementando su disponibilidad. Además, según estos autores, el incremento del pH durante la descomposición de los residuos incrementa la carga negativa superficial y disminuye la adsorción de P. El hecho de que no se hayan observado incrementos en el valor de pH en las parcelas abonadas con Purín puede justificar que no se hayan observado incrementos en los niveles de P en el suelo de estas parcelas.

El incremento observado en el contenido de los nutrientes del suelo estuvo asociado a un incremento en el pH y a la disminución de la saturación en Al, que fue más pronunciada en los tratamientos Biof y Lodo. El efecto positivo de las estrategias de abonado utilizadas coincide con los resultados de diversos trabajos de investigación que expresan un incremento en la disponibilidad de nutrientes en suelos abonados con residuos orgánicos (Hue, 1992; Whalen et al., 2000; Materechera y Mkhabela, 2002; Mokolobate y Haynes, 2002a). Hue y Licudine (1999) relatan incluso una mejora de la acidez del subsuelo tras la aplicación de residuos orgánicos (estiércol de pollo y lodos de depuradora urbana).

Teniendo en cuenta los antagonismos del Ca y del K con el Mg, la aplicación de los distintos tratamientos fertilizantes, y su consecuente efecto en la neutralización de la acidez, no ha producido cambios en el equilibrio de nutrientes (Tabla III-1.3). Por ello, no son de esperar carencias magnésicas en el forraje (Urbano-Terrón, 2002). En algunas situaciones, la relación entre nutrientes ha sido mejorada. Los suelos fertilizados con Biof han logrado un nivel óptimo de Ca/Mg en el último año del ensayo.

Tabla III-1.3. Relaciones entre nutrientes (media \pm desviación típica) en los suelos de los distintos tratamientos, calculadas para cada año del ensayo.

	2002	2003	2004
<u>Ca/Mg</u> ¹			
Control	7,4 \pm 4,5	7,3 \pm 1,3	6,5 \pm 1,2
Mineral	7,6 \pm 4,0	9,4 \pm 3,3	7,3 \pm 1,0
Purín	14,4 \pm 17,4	8,4 \pm 1,5	8,4 \pm 1,6
Lodo	4,9 \pm 1,8	7,5 \pm 1,9	7,1 \pm 1,4
Biof	6,1 \pm 0,9	8,3 \pm 2,9	4,9 \pm 1,1
<u>K/Mg</u> ²			
Control	1,8 \pm 0,6	1,1 \pm 0,3	0,9 \pm 0,3
Mineral	1,4 \pm 0,7	0,7 \pm 0,2	0,6 \pm 0,2
Purín	2,6 \pm 2,3	0,9 \pm 0,2	0,8 \pm 0,2
Lodo	1,2 \pm 0,5	0,6 \pm 0,3	0,6 \pm 0,2
Biof	0,7 \pm 0,2	0,6 \pm 0,3	0,5 \pm 0,2
<u>N/K</u> ³			
Control	0,7 \pm 0,3	1,2 \pm 0,4	1,3 \pm 0,4
Mineral	0,7 \pm 0,3	1,2 \pm 0,4	1,6 \pm 0,4
Purín	0,7 \pm 0,1	1,4 \pm 0,4	1,5 \pm 0,4
Lodo	0,7 \pm 0,3	1,5 \pm 0,5	1,7 \pm 0,5
Biof	0,9 \pm 0,3	1,1 \pm 0,4	1,2 \pm 0,5

Valor óptimo: ¹ 5 (López-Ritas y López-Melida, 1990) o <10 (Urbano-Terrón, 2002); ² <1,5 (López-Ritas y López-Melida, 1990); ³ [1-2,5] (Urbano-Terrón, 2002).

1.2. Productividad y composición botánica del forraje

Pudo observarse que en el primer año todos los tratamientos han logrado productividades similares a las obtenidas en los suelos agrarios de Galicia (6-12 t ha⁻¹ MS) (Mosquera-Losada y González Rodríguez, 1999) (Figura III-1.2).

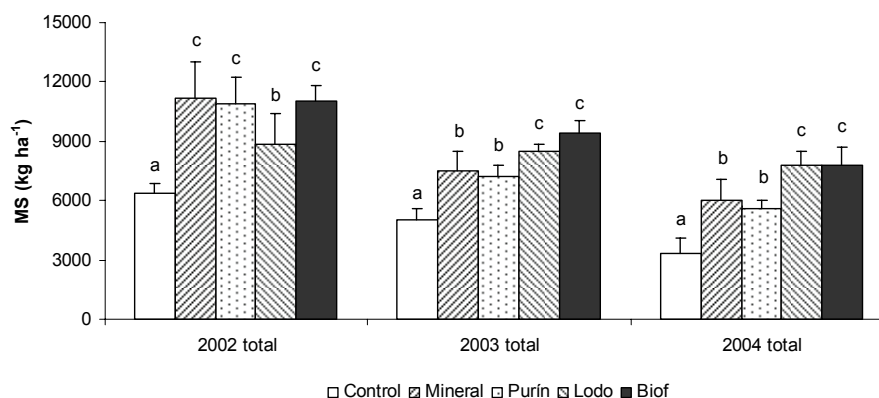


Figura III-1.2. Producción anual de forraje (kg ha⁻¹ MS) en los distintos tratamientos.

Para el mismo año, letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para $p < 0,05$ según el test DMS o Games-Howell. Las barras verticales representan la desviación típica. M.S.: materia seca.

En los siguientes años, la productividad del forraje ha sufrido un descenso en todos los tratamientos debido a las condiciones climáticas (Figura III-1.3).

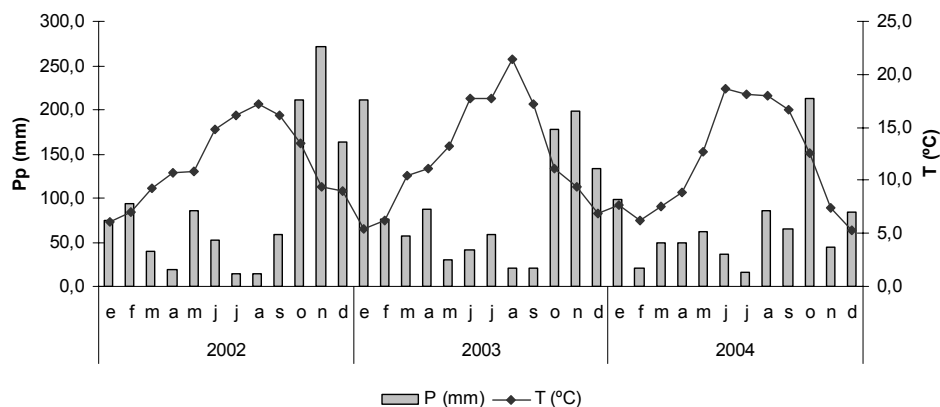


Figura III-1.3. Precipitaciones y temperaturas medias mensuales en los años 2002, 2003 y 2004.

Fuente: INM (2005).

En enero de 2003 las temperaturas medias han sido inferiores a 6 °C, que es la temperatura límite para el crecimiento de la pradera (Mosquera-Losada y González Rodríguez, 1999). Además, en ese año ha ocurrido un periodo de sequía en el mes de junio que ha comprometido el crecimiento de la pradera y una bajada en el rendimiento del forraje en el corte efectuado en julio. En este año las parcelas Control presentaron producciones inferiores a 6000 kg ha⁻¹ MS. En el 2004 las condiciones climáticas empeoran con respecto a años anteriores, siendo este el invierno menos lluvioso de los tres años. Además, las altas temperaturas observadas en junio y julio, han determinado dos meses de sequía, que han influido en el descenso de la productividad obtenida en las parcelas de todos los tratamientos. En este ultimo año, sólo las parcelas que recibieron Lodo y Biof han obtenido producciones dentro de la media (7770 y 7780 kg ha⁻¹ de MS, respectivamente).

Los resultados obtenidos para la productividad de forraje, indican que el efecto del Lodo y del Biof en la neutralización de la acidez del suelo y consecuente incremento en los niveles de nutrientes estuvo asociado a una mayor productividad del forraje en estos dos tratamientos (Figura III-1.2). Sin embargo, esta no será la única explicación para las productividades alcanzadas en estas parcelas, pues no se han encontrado correlaciones significativas entre la saturación en Al y la productividad del forraje en la mitad de los cortes realizados (Tabla III-

1.2). Tang et al. (2007) en un experimento de laboratorio realizado para evaluar el efecto de dos tipos de estiércol (estiércol de bovino y estiércol de pollo) en la reducción de la toxicidad en Al en un suelo ácido, han observado una relación significativa entre la biomasa de trigo y las dosis de aplicación de los estiércoles estudiados. Pero, de acuerdo con estos autores, ni el pH ni el Al han tenido efectos directos en el incremento de la biomasa de trigo. Han sido los efectos indirectos en la complejación y precipitación del Al producidos por el carbono (C) y por el P añadido con los estiércoles, los parámetros que más influyeron en dicho parámetro. Por otro lado, según Haynes y Naidu (1998), la aplicación de residuos orgánicos tiene efectos beneficiosos en las propiedades físicas del suelo, mejorando la estabilidad de los agregados e incrementando la capacidad de retención de agua, lo que puede justificar los mejores resultados obtenidos en el Lodo y en el Biof en 2003 y 2004. Además, los lodos utilizados presentan un extracto seco muy bajo, aportando al suelo una cantidad importante de agua (Tabla II-1). Otros autores obtuvieron productividades de forraje superiores en suelos ácidos abonados con estiércol y lodos de depuradora cuando fueron comparados con otros materiales enalantes y/o fertilizantes comerciales (Hue, 1992; Evers, 1998; Mokolobate y Haynes, 2002a; Naramabuye et al., 2008).

Sin embargo, la evolución de la composición botánica del forraje siguió la misma tendencia en todos los tratamientos analizados (Figura III-1.4).

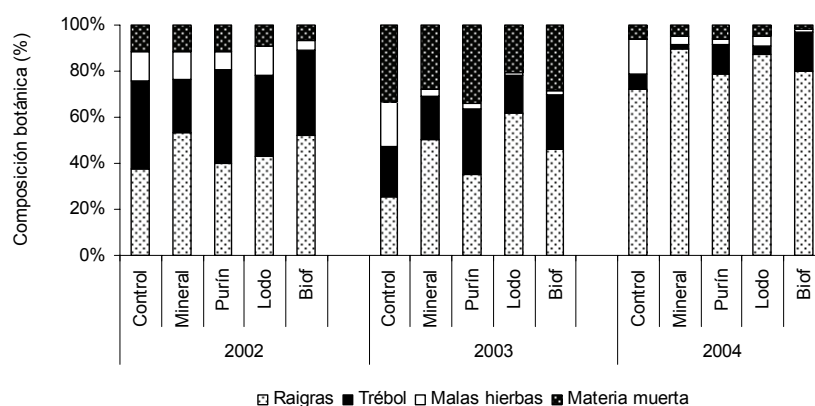


Figura III-1.4. Composición botánica anual del forraje en los distintos tratamientos.

A lo largo de los tres años la proporción de trébol ha disminuido y en 2004 las gramíneas representaban más del 70 % de la composición de la pradera. La neutralización de la acidez del suelo y el aporte de N de rápida mineralización por la fertilización mineral y con residuos orgánicos ha favorecido el crecimiento de las gramíneas. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por Wheeler (1998), en un estudio para evaluar los mecanismos que producen las respuestas al encalado en una pradera mixta de gramíneas y trébol. Además, la fuerte retención del P en los suelos no ha favorecido el crecimiento del trébol en verano, que presenta mayores exigencias de este nutriente (Rangeley y Newbould, 1985; Bailey y Laidlaw, 1999). Una pradera mixta presenta ventajas agronómicas y ecológicas, producidas por los mecanismos de competición, complementariedad, facilitación y por las interacciones nutricionales entre especies (Baumont et al., 2008; Huyghe y Litrico, 2008). Las asociaciones de gramíneas y leguminosas, comparadas con monocultivos de gramíneas, producen forraje de mayor valor nutritivo y mejor distribuida a lo largo del año (Sleugh et al., 2000; Zemenchik et al., 2002).

Según Sun et al. (2008), la eficiencia de la fertilización nitrogenada varía con el tipo de planta y de suelo, la época, las condiciones climáticas y las técnicas de aplicación. Asimismo, la estimación de las dosis de abonado con los residuos orgánicos no debe basarse única y exclusivamente en cumplir con las necesidades de nitrógeno (N) y en la neutralización de la acidez con la finalidad de incrementar la productividad del forraje. La estrategia de aplicación de residuos orgánicos deberá ser ajustada para lograr el máximo potencial de crecimiento de las especies que componen la mezcla pratense. En las mezclas gramíneas-trébol en suelos ácidos, dicha estrategia supone incrementar la disponibilidad de P teniendo en cuenta el aporte paralelo de N.

1.3. Síntesis de los resultados obtenidos para los parámetros químicos del suelo, productividad y composición botánica del forraje

Se ha demostrado que la aplicación de lodos de depuradora láctea y de estiércol deshidratado y granulado de pollo puede ser una alternativa a la utilización de fertilizantes minerales en suelos ácidos bajo pradera. Estos residuos orgánicos llevaron a mejores resultados que el abonado mineral comercial. Su efecto positivo en la disminución de la acidez del suelo, ha estado relacionado con una disminución de la saturación en Al y con un incremento en la

disponibilidad de nutrientes. La saturación en Al se ha desvelado como un parámetro más sensible que el pH en detectar el efecto de la aplicación de residuos en la acidez del suelo.

El efecto del lodo y del Biof en la mejora de la acidez se ha reflejado en un incremento de la productividad del forraje en las parcelas abonadas con estos residuos orgánicos. Sin embargo, la estrategia de fertilización deberá ser modificada con el objetivo de convertir el P a una forma más disponible, lo cual favorece el crecimiento del trébol en una pradera mixta.

2. Efecto en las comunidades de macrofauna del suelo

En este apartado, inicialmente se presentan y discuten los resultados obtenidos para las comunidades de macrofauna recolectadas a lo largo de dos años en una pradera en donde se han establecido al azar distintos tratamientos fertilizantes (Ensayo Dirigido). Utilizando la clasificación de los individuos hasta el nivel de orden o familia, se ha evaluado el efecto de la aplicación de residuos orgánicos empleando herramientas comunes, como son los índices de diversidad. Se han introducido también técnicas de análisis multivariante para encontrar un modelo estandarizado en la respuesta de las comunidades de macrofauna a la aplicación de residuos orgánicos.

A continuación, ha surgido la necesidad de verificar si este modelo estandarizado se mantenía en condiciones de diferente escala espacial. Para ello, se han monitorizado los mismos parámetros en parcelas de agricultores de mayor superficie que las anteriores, y cuyo plan de fertilización no ha sido cambiado (Parcelas Monitorizadas). La posibilidad de verificarse una extrapolación de los resultados entre las dos situaciones ha permitido avanzar para el desarrollo de un indicador global de calidad del suelo (GISQ) en estas condiciones.

2.1. Caracterización general de las comunidades de macrofauna

2.1.1. Evolución temporal de los efectivos y número de taxones

La Tabla III-2.1 presenta las abundancias de individuos y el número de taxones recolectados en el total de las cinco fechas de muestreo y por trampa en las parcelas de cada tratamiento.

Se han capturado un total de 6496 individuos repartidos en 42 taxones. La abundancia de individuos (N) y el número de taxones capturados (S) han variado significativamente según la época (d) ($F_{N,d}=6,894$; $p<0,05$ y $F_{S,d}=18,082$; $p<0,05$, respectivamente) y según el tratamiento fertilizante utilizado (f) ($F_{N,f}=13,353$; $p<0,05$ y $F_{S,f}=10,589$; $p<0,05$, respectivamente).

En las parcelas Control, Mineral y Monte fue donde se ha observado una mayor abundancia de individuos. Las parcelas abonadas con Purín, Lodo o Biof han

presentado las abundancias más bajas. Esta tendencia se ha observado también en el número de taxones y no se han observado grandes fluctuaciones a lo largo de las cinco fechas de muestreo (Tabla III-2.1).

Tabla III-2.1. Abundancia de la macrofauna del suelo en los diferentes tratamientos fertilizantes en las diferentes fechas (n=4) y en el total de los muestreos (n=20).

Época	Tratamientos						Total
	Control	Mineral	Purín	Lodo	Biof	Monte	
<u>may-04</u>							
N	580	321,0	359	132	143	337	1872
N por trampa	145,0 ± 38,1	80,3 ± 34,1	89,8 ± 10,0	33,0 ± 20,0	35,8 ± 20,3	84,3 ± 36,0	
S	22	22	21	17	14	23	36
S por trampa	13,8 ± 1,3	13,5 ± 2,4	13,5 ± 1,9	10,0 ± 4,2	8,0 ± 2,9	13,5 ± 3,1	
<u>nov-04*</u>							
N	307	194,0	7	182	156	202	1048
N por trampa	76,8 ± 48,0	48,5 ± 11,0	1,8 ± 1,5	45,5 ± 10,8	39,0 ± 22,2	50,5 ± 45,8	
S	17	18	3	13	10	12	25
S por trampa	9,5 ± 1,0	9,0 ± 1,4	1,0 ± 0,0	8,3 ± 2,2	6,0 ± 2,2	7,5 ± 1,7	
<u>may-05</u>							
N	500	394,0	167	137	133	175	1506
N por trampa	125,0 ± 22,3	98,5 ± 45,8	41,8 ± 15,4	34,3 ± 9,7	33,3 ± 10,4	43,8 ± 13,0	
S	22	18	14	15	15	12	25
S por trampa	15,5 ± 1,0	13,0 ± 2,6	9,3 ± 2,2	9,0 ± 0,8	7,8 ± 1,5	6,8 ± 1,0	
<u>nov-05</u>							
N	218	189,0	109	219	124	66	925
N por trampa	54,5 ± 11,7	47,3 ± 7,6	27,3 ± 17,2	54,8 ± 28,9	31,0 ± 7,4	16,5 ± 13,4	
S	13	19	11	13	9	9	21
S por trampa	7,8 ± 2,2	9,0 ± 4,5	6,5 ± 2,5	7,8 ± 1,5	5,3 ± 1,5	4,3 ± 1,7	
<u>may-06</u>							
N	323	183,0	175	109	129	226	1145
N por trampa	80,5 ± 15,2	45,8 ± 17,2	43,8 ± 13,7	27,3 ± 13,7	32,3 ± 6,6	56,5 ± 22,2	
S	22	19	14	14	15	17	30
S por trampa	11,5 ± 2,4	9,8 ± 1,7	7,8 ± 3,1	7,8 ± 3,0	8,5 ± 1,3	9,3 ± 3,0	
<u>Total</u>							
N	1928	1281	817	779	685	1006	6496
N por trampa	96,4 ± 43,6	64,1 ± 32,8	50,6 ± 27,4	39,0 ± 19,0	34,3 ± 13,6	50,3 ± 34,2	
S	35	33	24	30	27	33	42
S por trampa	11,6 ± 3,2	10,9 ± 3,2	9,3 ± 3,5	8,6 ± 2,5	7,1 ± 2,2	8,3 ± 3,7	

N: número de individuos; S: número de taxones. *: ha ocurrido un problema en el muestreo de estas parcelas y se ha repetido después del corte del forraje, lo que explica los bajos valores encontrados.

2.1.2. Distribución de abundancias de los individuos por los diferentes taxones

Teóricamente, cuanto menor es la media y la variancia de la distribución, menos alterada está la comunidad (Lande et al., 2000). Según los datos de la Tabla III-2.2, se puede comprobar que la comunidad de Monte ha sido la menos alterada, por lo que puede ser considerada como referencia. Después aparecen las comunidades correspondientes a las parcelas abonadas con los residuos orgánicos, en concreto el Biof, y luego las parcelas Mineral y Control.

Tabla III-2.2. Distribución lognormal de las comunidades de macrofauna en las parcelas sometidas a distintos tratamientos

Tratamientos	Distribución lognormal	
	Media	Varianza
Control	0,799	0,984
Mineral	0,761	0,828
Purín	0,862	0,746
Lodo	0,836	0,556
Biof	0,715	0,705
Monte	0,690	0,673

Las curvas de distribución lognormal de abundancia de individuos, representadas en la Figura III-2.1, indican un mejor ajuste en las parcelas Monte, confirmando lo comentado anteriormente. En las parcelas en donde se han aplicado los residuos orgánicos se han verificado ajustes regulares. Los peores ajustes se han verificado en las parcelas Mineral y Control.

Apoyándonos en estos análisis previos basados en la totalidad de los datos obtenidos, se puede decir que la aplicación de residuos orgánicos en el suelo no ha tenido un efecto negativo y que estos han originado comunidades más estables que la aplicación de abono Mineral.

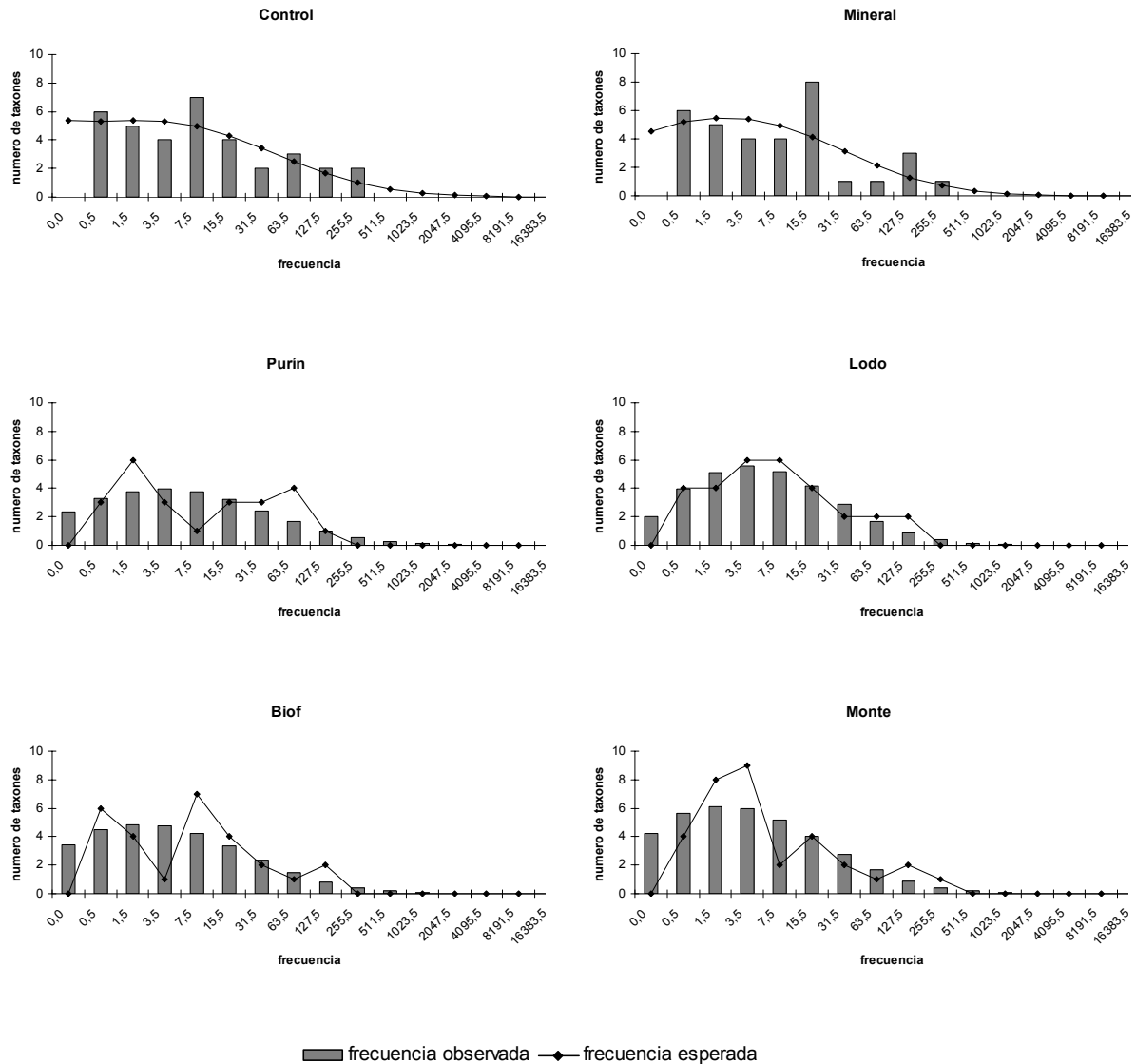


Figura III-2.1. Curvas de distribución lognormal de abundancia de individuos en todos los tratamientos ensayados.

2.1.3. Distribución de los individuos por grandes grupos taxonómicos

Agrupando los distintos individuos en grandes grupos taxonómicos (orden o clase), se puede observar que, de manera global, los grupos taxonómicos dominantes fueron Araneae, Coleoptera, Diptera y Hemiptera, representando 83,7 % del total de individuos capturados (Figura III-2.2).

Diplopoda, Chilopoda, Isopoda, Tricoptera y Ephemeroptera se han agrupado en “Otros” por haber contribuido con menos de cinco individuos en el total de los datos obtenidos en cada uno de los tratamientos.

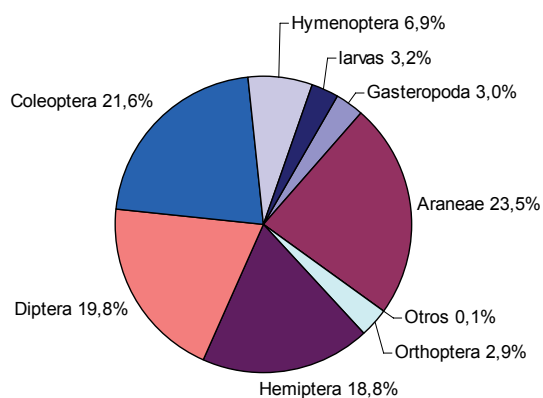


Figura III-2.2. Distribución de los individuos capturados por grandes grupos taxonómicos (n=120).

En la Figura III-2.3 se representa el peso porcentual de cada grupo taxonómico en cada uno de los tratamientos estudiados, desde dos perspectivas distintas: “total de tratamientos” y “por tratamiento”.

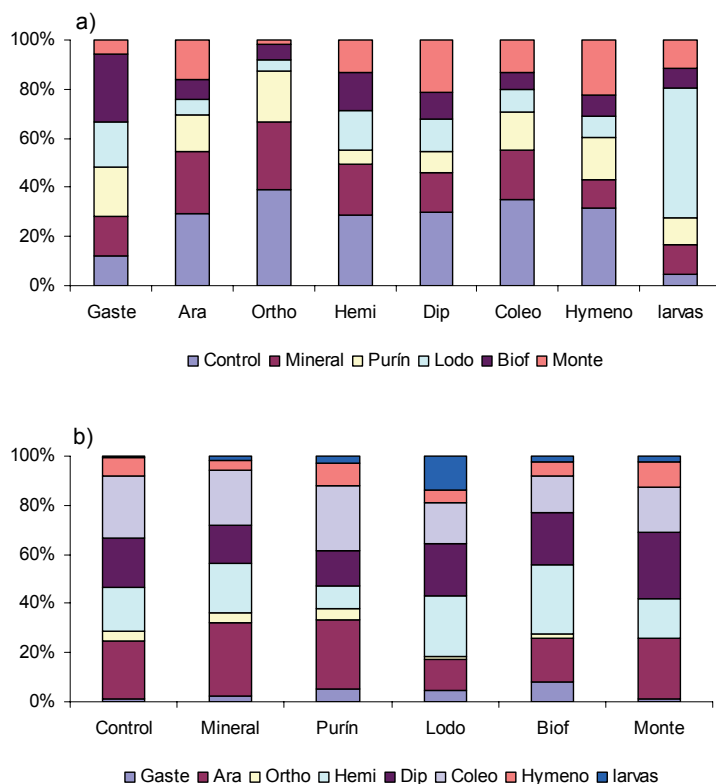


Figura III-2.3. Distribución porcentual de la abundancia total de individuos: a) en el total de tratamientos^a b) por tratamiento^b.

^a: peso del grupo taxonómico en cada uno de los tratamientos respecto al peso del mismo grupo taxonómico en el total de los tratamientos. ^b: peso del grupo taxonómico en cada uno de los tratamientos respecto al peso de los demás grupos taxonómicos en ese tratamiento. Gaste: Gasteropoda. Ara: Araneae. Ortho: Orthoptera. Hemi: Hemiptera. Dip: Diptera. Coleo: Coleoptera. Hymeno: Hymenoptera.

De una manera global, se han encontrado más discrepancias cuando se hizo el análisis de la contribución del total de tratamientos para cada taxón (Figura III-2.3a). Araneae, Hemiptera, Diptera y Coleoptera han sido los cuatro grupos más abundantes en las parcelas Control, Mineral, Lodo, Biof y Monte (Figura III-2.3b). En las parcelas con aplicación de Purín, el grupo Himenoptera ha sustituido al grupo Hemiptera como el cuarto más abundante.

Hay que considerar que las abundancias de individuos para los grupos Araneae, Diptera y Coleoptera han sido influidas por el tratamiento (f) ($F_{Nara,f}=8,378$, $F_{Ndip,f}=6,503$, $F_{Ncol,f}=15,336$; $p<0,01$), pero también, y en mayor medida (mayor valor de F), por la época (d) ($F_{Nara,d}=29,702$, $F_{Ndip,d}=23,203$, $F_{Ncol,d}=33,735$; $p<0,01$)⁷.

La Figura III-2.4 representa la evolución de las abundancias de individuos pertenecientes a cada grupo en cada uno de los tratamientos fertilizantes y a lo largo de los cinco muestreos. Considerando el factor “Fecha”, se puede decir que los grupos Araneae, Diptera y Coleoptera siguen la misma tendencia, presentando abundancias superiores en primavera e inferiores en otoño. El grupo Hemiptera sigue una tendencia inversa, presentando sus picos de abundancia en los muestreos realizados en el otoño.

La abundancia de individuos pertenecientes al orden Coleoptera ha sido afectada por el tratamiento fertilizante en todas las fechas de muestreo, excepto en mayo de 2005 (Figura III-2.4). Las abundancias de Araneae, Hemiptera y Diptera han sido afectadas por los tratamientos fertilizantes en una o dos fechas de muestreo (Figura III-2.4). De una manera general, las abundancias de estos cuatro grupos han sido superiores en las parcelas Control (Figura III-2.4). Se ha observado que las parcelas Lodo y Biof han presentado abundancias significativamente más bajas de Araneae y de Coleoptera en mayo del 2004 (Figura III-2.4). Lo mismo ha ocurrido para las abundancias de Coleoptera en noviembre de 2005 y, en el caso del Lodo, en mayo de 2006. Estos dos tratamientos orgánicos también han producido abundancias significativamente más bajas de Hemiptera en mayo de 2006 (esta vez junto con el tratamiento Mineral).

⁷ Los datos de abundancia del grupo Hemiptera no se han podido analizar a través de este análisis por no alcanzar el presupuesto de normalidad y homogeneidad, aún después de transformados.

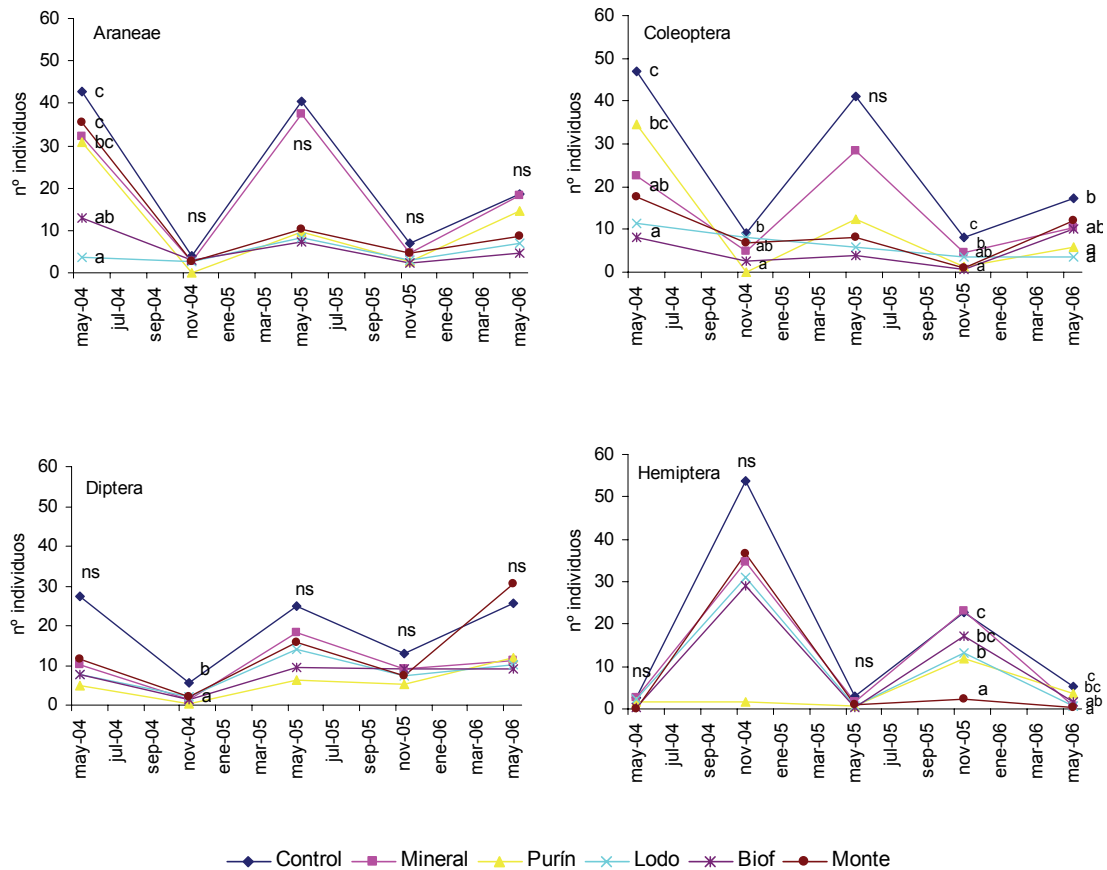


Figura III-2.4. Comparación de medias de abundancias de individuos de los grupos taxonómicos Araneae, Hemiptera, Diptera y Coleoptera en todos los tratamientos a lo largo de los cinco muestreos realizados.

Para cada grupo, letras distintas en la misma fecha indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$) por el test DMS o Games Howell. ns: no significativo.

2.2. Aplicación de índices de diversidad

Para sintetizar la información obtenida de las comunidades de macrofauna en un único valor que pueda ser evaluado estadísticamente a través de un análisis univariante, se han calculado índices de diversidad (Magurran, 2004).

2.2.1. Influencia de la fecha de muestreo y del tratamiento fertilizante

Se ha empezado por evaluar el efecto de la fecha de muestreo (d) y del tratamiento (f) en los valores de los índices de diversidad calculados con todos los datos de abundancia de individuos capturados y considerando su distribución para los 42 taxones.

El índice de Simpson (1-D), el índice de Berger-Parker (d) y el índice de Shannon-

Wiener (H') han sido influidos solamente por la fecha ($F_{[1-D],d}=6,325$; $F_{d,d}=6,552$; $F_{H',d}=14,023$; $p<0,01$). El índice de Smith y Wilson (Evar) y el índice de equidad de Simpson ($E_{1/D}$) han sido afectados únicamente por el tratamiento fertilizante ($F_{Evar,f}=5,170$; $F_{E1/D,f}=4,294$; $p<0,01$).

A continuación se han analizado los índices afectados por el tratamiento fertilizante, considerando su evolución a lo largo de los cinco muestreos realizados.

2.2.2. Evolución temporal de los índices de diversidad

Los índices de Simpson (1-D), de Berger-Parker (d) y de Shannon-Wiener (H') no han sido afectados por el tratamiento fertilizante en ninguna de las fechas de muestreo.

Los índices de Simpson (1-D) y de Berger-Parker (d) son considerados índices de dominancia (Magurran, 2004), siendo sensibles a los taxones más predominantes. El hecho de no haberse observado diferencias significativas está de acuerdo con lo observado anteriormente para las abundancias de los cuatro grupos taxonómicos dominantes: Araneae, Coleoptera, Diptera y Hemiptera. De hecho, en los gráficos de la Figura III-2.4, que representan las abundancias de los individuos de estos grupos a lo largo de los cinco muestreos, las formas de las líneas son idénticas a las observadas para estos dos índices de diversidad (Figura III-2.5). Nótese que el índice de Simpson está representado en la forma complementaria (1-D). El índice de Shannon a su vez es más sensible a los taxones menos abundantes (Magurran, 2004). Si se hubieran aplicado únicamente estos índices, se podría considerar que la aplicación de los residuos orgánicos aplicados al suelo no había producido cambios en la riqueza y abundancia de las comunidades de macrofauna.

Por otro lado, los índices de Smith y Wilson y el índice de equidad de Simpson (Evar y $E_{1/D}$) han sido más sensibles a los diferentes fertilizantes aplicados, por permitir detectar diferencias entre tratamientos en la mayoría de los muestreos realizados (Figura III-2.5).

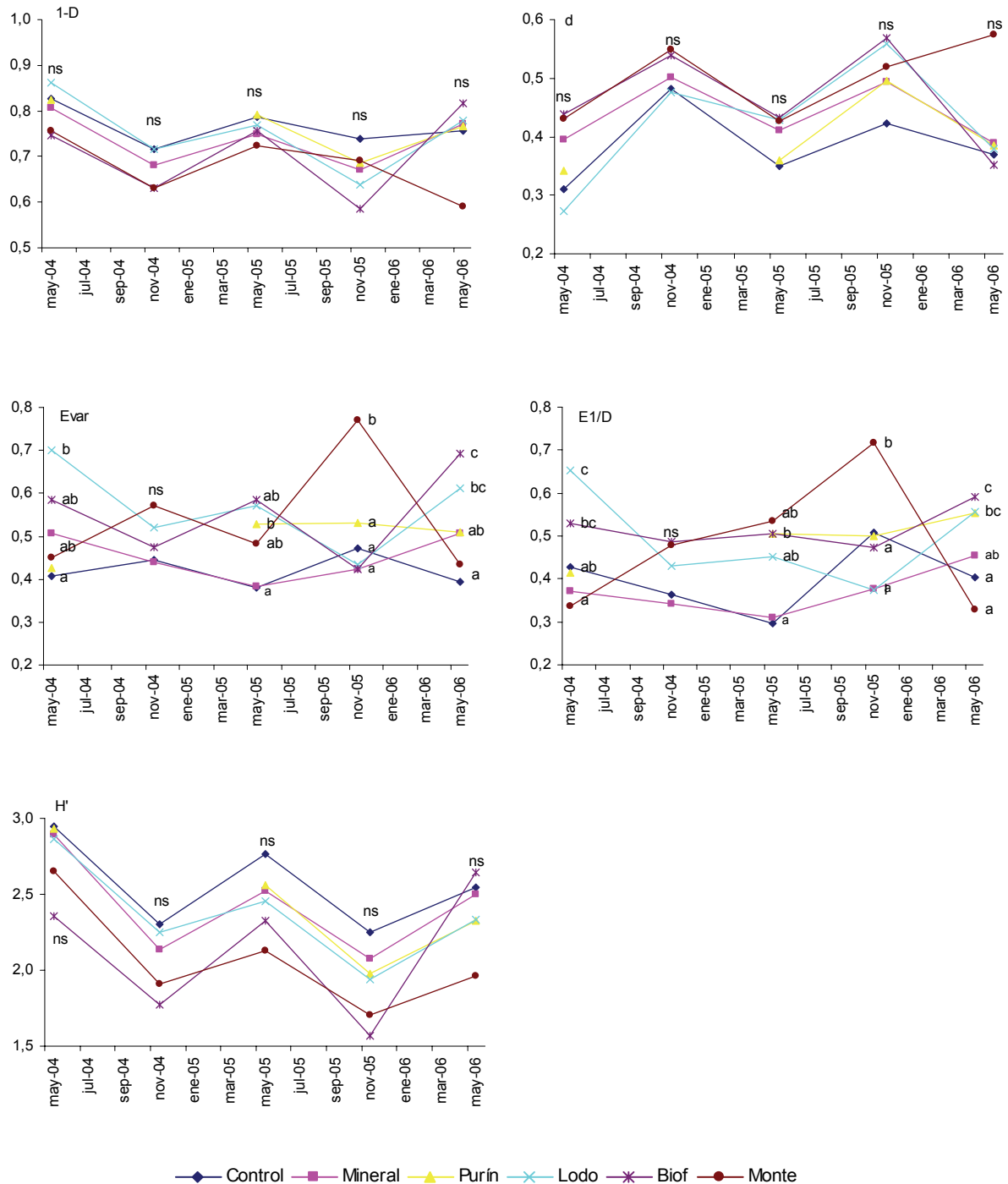


Figura III-2.5. Evolución a lo largo de las cinco fechas de muestreo de los índices de diversidad.

Para cada índice, letras diferentes en la misma fecha indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$) por el test DMS o Games-Howell. ns: no significativo. 1-D: índice de diversidad de Simpson, H': índice de Shannon-Wiener, Evar: índice de equidad de Smith y Wilson, E_{1/D}: medida de equidad de Simpson, d: índice de Berger-Parker.

Exceptuando el muestreo de noviembre de 2005, en que el Monte ha presentado valores significativamente superiores a todos los tratamientos para estos dos índices, las diferencias existentes han estado marcadas por la aplicación de los residuos orgánicos,

sobre todo en los muestreos realizados en primavera. Las parcelas Lodo han presentado un índice de Smith y Wilson (Evar) significativamente superior al de las parcelas Control y Purín en mayo de 2004; en mayo de 2005, las parcelas Purín han presentado valores significativamente superiores a las parcelas Control y Mineral; y en mayo de 2006 las parcelas Biof y Lodo han tenido los valores superiores para este índice (Figura III-2.5). El índice de equidad de Simpson ($E_{1/D}$), en mayo de 2004, ha sido significativamente superior en las parcelas Lodo y Biof comparado con las parcelas Mineral y Monte; y en mayo de 2005, las parcelas fertilizadas con residuos orgánicos juntamente con las parcelas de Monte han presentado valores superiores a Control y Mineral (Figura III-2.5).

Estos índices son considerados índices de equidad, es decir, toman en cuenta el valor de importancia de cada taxón (Magurran, 2004). Se puede decir que la fertilización con residuos orgánicos ha llevado a una mayor equidad en la distribución por los diferentes taxones de las comunidades de macrofauna. Estos índices confieren más importancia a los taxones comunes, por lo que los taxones presentes en las parcelas Control o Mineral y ausentes en los demás tratamientos son desestimados en el cálculo. Sin embargo, las fluctuaciones entre fechas de muestreo tienen un peso muy importante. Dependiendo de cuando se haga el muestreo, el valor del índice va a variar y va a variar también el tratamiento con mayor valor para el índice.

Se puede concluir que, en general, los índices de diversidad calculados no han sido efectivos en detectar diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes tratamientos fertilizantes.

Algunos autores han demostrado la insensibilidad de los índices de diversidad en comparación con otros métodos. Belaoussoff et al. (2003) han utilizado siete índices de diversidad⁸ para evaluar el efecto del mínimo laboreo en las comunidades de carábidos y han concluido que los índices y los modelos de diversidad no han sido útiles para detectar posibles efectos de perturbaciones en los carábidos.

Puede que, para que se manifesten posibles diferencias en los valores de los índices de diversidad, haga falta profundizar en el nivel taxonómico de determinación de la macrofauna. Este hecho ha sido puesto en evidencia para la macrofauna del medio marino por Guerold (2000). No obstante, eso dificultaría aún más su posible utilización

⁸ Índice de diversidad de Shannon, equidad de Shannon, índice de Margaleff, índice de dominancia de Berger-Parker, estadístico-Q, estadístico- α y índice de Jaccard.

como indicador de calidad, ya que el muestreo y la identificación serían más complejos y costosos y exigirían la consulta de especialistas en los distintos grupos taxonómicos, contraviniendo las propuestas de Doran y Parkin (1996). La clasificación de las comunidades de macrofauna en niveles taxonómicos superiores es apoyada por los trabajos de Nahmani et al. (2006) y Biaggini et al. (2007) y ha sido utilizada en otros trabajos que han evaluado el efecto de las prácticas agrícolas en la fauna del suelo (Nkem et al., 2002; Benito et al., 2004; de Aquino et al., 2008). Adviértase que, de todos modos, en el trabajo de Belaoussoff et al. (2003), anteriormente citado, las comunidades de carábidos habían sido identificadas hasta al nivel de especie sin que eso hubiera producido una respuesta de los carábidos a la perturbación detectada por los índices utilizados.

Otro problema inherente a estos índices es el hecho de no integrar otros factores que no sean la abundancia o la riqueza, no reflejando la realidad de lo que ocurre en el ecosistema. Las comunidades pueden ser idénticas en términos de riqueza y equidad, pero pueden ser diferentes en la diversidad taxonómica de sus especies (Magurran, 2004). Los índices de diversidad no consideran este aspecto de la diversidad biológica.

En este sentido, a continuación se presentan los resultados derivados de la realización de un análisis multivariante, que utiliza toda la información disponible de las comunidades de macrofauna.

2.3. Discriminación multivariante de grupos de las comunidades de macrofauna

2.3.1. Discriminación entre épocas de muestreo

En este apartado se hizo un análisis de las comunidades de macrofauna utilizando los datos obtenidos para todos los taxones a través de un análisis de similitud de Bray-Curtis (ANOSIM) (Tabla III-2.3).

Tabla III-2.3. Análisis de similitud de las comunidades de macrofauna entre los distintos tratamientos para los diferentes factores estudiados.

Estadísticos	Factores			
	<i>Season</i>	<i>Shrub</i>	<i>Control</i>	<i>Fertilizer</i>
Estadístico r_s	0,638	0,075	0,035	-0,022
Nivel de significación (p)	0,001	0,252	0,335	0,551

Season: Época de muestreo, *Shrub*: Monte vs pradera, *Control*: Monte y Control vs parcelas fertilizadas, *Fertilizer*: Control vs Mineral vs Fertilización con residuos orgánicos vs Monte. r_s : medida comparativa del grado de separación de los tratamientos.

Para el total de los datos obtenidos para las comunidades de macrofauna, de los cuatro factores analizados, el único que ha permitido discriminar los tratamientos analizados de forma significativa ha sido la época de muestreo (*season*) ($r_s=0,638$; $p=0,001$) (Tabla III-2.3). Por este motivo, a continuación, se ha utilizado este factor para realizar un análisis de agrupamiento (*cluster*), cuyos resultados se muestran en el dendrograma (Figura III-2.6), y también se ha utilizado un método de ordenación multidimensional no métrico (MDS) (Figura III-2.7).

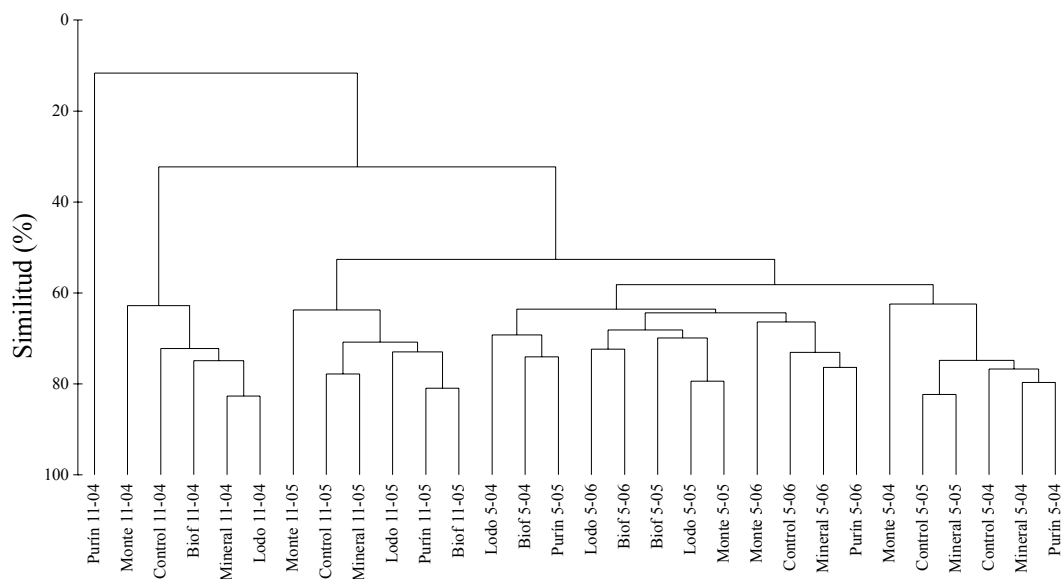


Figura III-2.6. Dendrograma de todos los tratamientos y todas las fechas de muestreo.

Basado en la matriz de similitud de Bray-Curtis y con las abundancias transformadas en su raíz cuadrada.

En las dos representaciones se puede observar claramente la separación entre los muestreos realizados en otoño (noviembre de 2004 y noviembre de 2005) de los muestreos llevados a cabo en primavera (mayo de 2004, mayo de 2005 y mayo de 2006). El nivel de *stress* inferior a 0,1 obtenido en la ordenación MDS indica que el agrupamiento obtenido es significativo. Esta separación en función de la época del año puede deberse a que en otoño la abundancia de individuos capturados haya sido mucho más baja, estando relacionado con el ciclo de vida de los organismos del suelo. Es en primavera cuando para la mayoría de especies se da la proliferación poblacional, como consecuencia de la mayor temperatura, disponibilidad de agua y alimento (Curry, 1994).

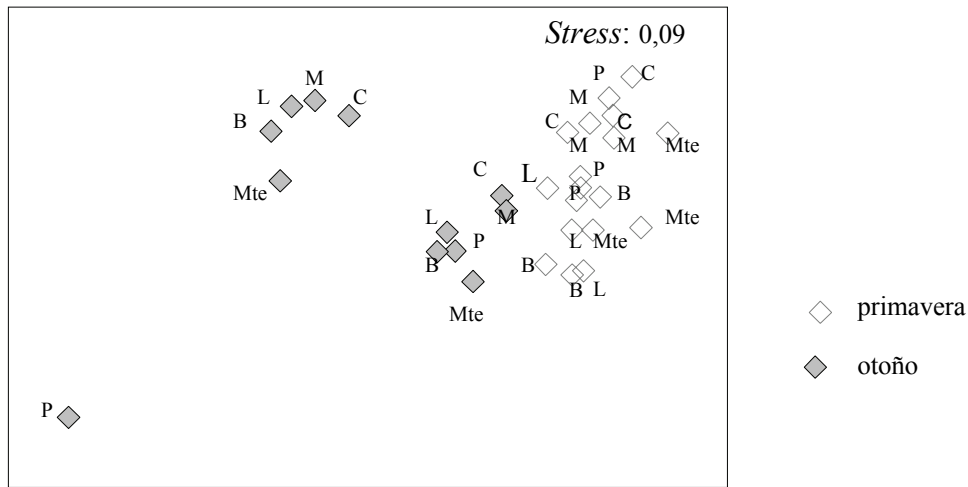


Figura III-2.7. Ordenación MDS de todos los tratamientos y de todas las fechas de muestreo.

Basado en la matriz de similitud de Bray-Curtis y con las abundancias transformadas en su raíz cuadrada.
C: Control, M: Mineral, P: Purín, L: Lodo, B: Biof, Mte: Monte.

De entre los dos muestreos realizados en otoño, el de noviembre de 2005 se presenta más próximo a los llevados a cabo en primavera, haciendo suponer un año con un otoño más suave. De hecho la media de las temperaturas máximas durante el mes de octubre de 2005 ha sido de 19,7 °C, lo que representa casi tres grados más a lo observado en octubre de 2004 (16,9 °C) (MeteoGalicia, 2008). Además, en el mes de noviembre de 2005 la media de las temperaturas mínimas ha sido un grado superior (4,4 °C frente a 3,3 °C) y ha llovido cuatro veces más (88 mm frente a 24 mm) que en el mismo mes de 2004 (MeteoGalicia, 2008). Estas condiciones pueden haber contribuido al incremento en la abundancia de individuos capturados en las trampas.

Las abundancias de los individuos que constituyen la macrofauna del suelo varían a lo largo del tiempo, pues cada especie tiene ritmos estacionales que están regulados sobre todo por la temperatura y humedad. Rossi y Blanchart (2005), en la caracterización de la macrofauna del suelo en seis zonas definidas por diferentes tipos de vegetación, han tomado muestras en cinco ocasiones a lo largo de un año y han observado que el manejo, pero también la variabilidad temporal, han inducido a cambios significativos en las comunidades de macrofauna del suelo.

Los taxones responsables de la separación entre la época de muestreo están indicados en la Tabla III-2.4. Homoptera y Araneae han sido los taxones con un porcentaje de contribución más alto.

Tabla III-2.4. Taxones responsables de la discriminación de grupos utilizando *season* como factor.

Taxones	Abundancia media (nº de individuos)		Contribución (%)
	primavera	otoño	
Homoptera	1,50	14,71	10,13
Araneae	19,06	3,23	9,36
Heretoptera	0,07	8,35	7,72
Carabidae	7,03	0,85	6,85
Diptera	14,31	5,33	6,78
Formicidae	5,04	0,71	6,29
Curculionidae	2,47	0,02	5,20

Disimilitud media: 61,08 %.

Los muestreos de otoño han presentado una abundancia media de individuos pertenecientes a los taxones Homoptera y Heteroptera superior a la obtenida en los muestreos de primavera (Tabla III-2.4). Estos dos grupos son sub-órdenes del orden Hemiptera y las abundancias superiores de estos individuos en otoño están de acuerdo con lo observado anteriormente (Figura III-2.4). Los individuos del orden Hemiptera ocurren tanto en el suelo como en las plantas y son sobre todo fitófagos, incluyendo muchas de las plagas más importantes de los cultivos agrícolas (Curry, 1994). La mayor abundancia de individuos de este orden en esta época del año puede estar relacionada con las menores abundancias de sus depredadores. Esta relación ha sido estudiada por Birkhofer et al. (2008a), que han observado, en sistemas de agricultura ecológica, que la disminución de abundancias de afidios estaba relacionada con un incremento en las abundancias de arañas.

Por otro lado, en los muestreos de primavera han sido más elevadas las abundancias medias de Araneae, Carabidae, Diptera, Formicidae y Curculionidae. Estos resultados están de acuerdo con los observados por Nkem et al. (2002). Estos autores, estudiando el efecto de la fertilización nitrogenada en una rotación trigo-algodón, han observado un incremento de la abundancia de arañas y coleópteros a lo largo de la estación de crecimiento (invierno, primavera, verano).

2.3.2. Discriminación de grupos en primavera y en otoño

Con motivo de la separación entre épocas de muestreo observada en el punto anterior, se hizo el ANOSIM considerando por separado los datos de primavera y otoño para los factores *shrub*, *control* y *fertilizer*, anteriormente definidos (Tabla III-2.5).

Tabla III-2.5. Análisis de similitud de las comunidades de macrofauna capturadas en primavera o en otoño entre los distintos tratamientos y para los diferentes factores estudiados.

Estadísticos	Factores		
	<i>Shrub</i>	<i>Control</i>	<i>Fertilizer</i>
<u>primavera</u>			
Estadístico r_s	0,257	0,338	0,295
Nivel de significación (p)	0,048	0,003	0,015
Test de pares (r_s ; p)		C,F (0,281; 0,037) C,S (0,407; 0,200) F,S (0,344; 0,035)	C,M (0,111; 0,500) C,O (0,535; 0,009) C, S (0,407; 0,200) M,O (0,069; 0,300) M,S (0,481; 0,200) O, S (0,333; 0,049)
<u>otoño</u>			
Estadístico r_s	0,128	-0,059	-0,171
Nivel de significación (p)	0,212	0,513	0,780

Factores: *Shrub*- Monte vs pradera; *Control*- Monte y Control vs parcelas fertilizadas; *Fertilizer*- Control vs Mineral vs Fertilización con residuos orgánicos vs Monte. Test de pares: C- control, F- fertilizada, S- monte, M- fertilización mineral, O- fertilización con residuos orgánicos. r_s : medida comparativa del grado de separación de los tratamientos.

El ANOSIM ha sido significativo para los tres factores considerados solamente cuando se han utilizado los datos obtenidos en los muestreos de primavera (Tabla III-2.5).

A continuación, se examinan los grupos discriminados por los diferentes factores analizados con base en los test de pares, en la representación gráfica de los grupos y haciéndose referencia a los taxones responsables de la discriminación.

2.3.2.1. Efecto del tipo de uso del suelo (factor *shrub*)

Con el factor *shrub* ha sido posible diferenciar las comunidades de macrofauna de las parcelas de la pradera (Control, Mineral, Purín, Lodo y Biof) de las de la parcela Monte de referencia ($r_s=0,257$; $p=0,048$) (Tabla III-2.5). Las comunidades de macrofauna fueron sensibles a la conversión de monte a pradera. En este estudio, el establecimiento de la pradera ha cambiado la estructura de las comunidades de macrofauna. Es conocido

el efecto de la intensificación agrícola en la disminución de la riqueza y abundancia de individuos (Rushton et al., 1989; Benito et al., 2004; Atwood et al., 2008) y las especies cuya época de reproducción coincide con la realización de prácticas agrícolas más intensas (primavera) son las más afectadas (Rushton et al., 1990, citado por Rainio y Niemela, 2003). Da Silva et al. (2006), en un estudio sobre el impacto de diferentes sistemas de producción en la macrofauna del suelo, han observado que la vegetación nativa presentaba una mayor densidad total y diversidad de taxones, por proporcionar un ambiente más favorable a nivel de la variedad de microhabitats y de oferta de recursos. También Attwood et al. (2008), en un meta-análisis⁹ utilizando datos de artrópodos de diversos trabajos publicados, han observado que la riqueza y la abundancia, sobre todo de depredadores y descomponedores, eran superiores en las zonas con un uso menos intensivo (vegetación nativa) que en los sistemas agrícolas. Pero, en el caso ahora analizado, solamente en el muestreo realizado en mayo de 2004 se ha observado mayor riqueza de taxones en Monte (Tabla III-2.1), y las arañas y los carábidos han sido incluso más abundantes en pradera (Tabla III-2.6).

Tabla III-2.6. Taxones responsables por la discriminación de grupos utilizando *shrub* como factor para los muestreos de primavera.

Taxones	Abundancia media (nº de individuos)		Contribución (%)
	pradera	monte	
Araneae	19,23	18,17	8,02
Diptera	13,30	19,33	6,59
Carabidae	7,88	2,75	6,54
Agriolimacidae	2,12	0,08	5,62

Disimilitud media: 39,39 %

Los resultados obtenidos para los carábidos están de acuerdo con lo observados por Callaham et al. (2006), que han encontrado una comunidad de macrofauna más diversa en bosques, pero han hallado mayor abundancia de Carabidae en pastos y otros cultivos. Sin embargo, se debe resaltar que la significación de esta discriminación se encuentra muy próxima al 5 % (Tabla III-2.5) por lo que hace falta prudencia en la discusión de este resultado. De hecho, la representación gráfica presentada en las Figuras III-2.8 y III-2.9 no permite discriminar entre las parcelas de Monte y las demás parcelas.

⁹ El meta-análisis es un método que permite analizar y sintetizar los resultados de diversos estudios independientes que analizan la misma cuestión.

2.3.2.2. Efecto de la aplicación de fertilizantes (factor control)

El factor *control* ha permitido distinguir las parcelas fertilizadas de la parcela Control ($r_s=0,281$; $p=0,037$) y de la parcela Monte ($r_s=0,344$; $p=0,035$). La parcela Monte (S) y la parcela Control (C) del prado no se han diferenciado en este ANOSIM. Sin embargo, el hecho de aplicarse fertilizantes ha contribuido a que ocurran cambios en la composición de la macrofauna. Esto hace suponer que los cambios en la estructura de las comunidades no han estado únicamente motivados por la conversión del uso del suelo de monte a pradera, sino también por la aplicación de fertilizantes.

De los taxones responsables por la discriminación entre estas parcelas, la mayoría han sido más abundantes en las parcelas Control o en la parcela de Monte (Tabla III-2.7), lo que está de acuerdo con lo anteriormente referido en relación a las consecuencias de la intensificación agrícola para la biodiversidad.

Tabla III-2.7. Taxones responsables por la discriminación de grupos utilizando *control* como factor para los muestreos de primavera.

Taxones	Abundancia media (nº de individuos)		Contribución (%)
<u>C; F¹</u>	<u>Control (C)</u>	<u>Parcela fertilizadas (F)</u>	
Carabidae	18,33	5,27	10,25
Araneae	33,92	15,56	9,81
Diptera	26,08	10,10	8,47
Formicidae	9,67	3,27	5,91
Curculionidae	5,83	2,00	5,07
Apionidae	3,83	2,04	5,05
<u>C; S²</u>	<u>Control (C)</u>	<u>Monte (S)</u>	
Carabidae	18,33	2,75	10,38
Araneae	33,92	18,17	8,51
Homoptera	3,33	0,42	5,28
Acrididae	2,25	0,00	5,17
<u>F; S³</u>	<u>Parcelas fertilizadas (F)</u>	<u>Monte (S)</u>	
Araneae	15,56	18,17	7,89
Diptera	10,10	19,33	7,18
Agriolimacidae	2,29	0,08	6,15
Formicidae	3,27	7,50	5,57
Carabidae	5,27	2,75	5,56
Larvas	0,98	1,92	5,13

Disimilitud media: ¹39,40 %; ²40,17 %; ³39,19 %.

2.3.2.3. Efecto de la aplicación de residuos orgánicos (factor fertilizer)

Con el factor *fertilizer* se han distinguido las parcelas abonadas con residuos orgánicos de la parcela Control del prado ($r_s=0,535$; $p=0,009$) y de la parcela Monte ($r_s=0,394$; $p=0,020$).

Comparando la agricultura convencional con la agricultura ecológica, Birkhoefer et al. (2008a) han concluido que la fertilización con estiércol fomenta la presencia de enemigos naturales e ingenieros del ecosistema mejorando el ciclo de nutrientes y el control de plagas. Lo mismo han observado Forge et al. (2005) utilizando estiércol y purín. Sería por lo tanto de esperar encontrar diferencias entre las parcelas fertilizadas con residuos orgánicos (Purín, Lodo y Biof) y las parcelas con fertilización mineral (Mineral). Sin embargo, esto no ha sucedido. Las diferencias encontradas por los autores citados anteriormente pueden no ser debido al tipo de fertilizante utilizado, pero sí a otras prácticas utilizadas en la agricultura ecológica (como la no utilización de herbicidas, el mínimo laboreo, etc.).

El dendrograma y el MDS separan principalmente las parcelas abonadas con Lodo y Biof de las otras parcelas (Figuras III-2.8 y III-2.9).

De una manera global, Araneae y Carabidae han sido los taxones con mayor influencia en la separación de los grupos (Tabla III-2.8).

Las diferencias entre la parcela Control y las parcelas abonadas con los residuos orgánicos (O) se han debido a los taxones Carabidae, Araneae, Diptera y Formicidae (Tabla III-2.8).

Los taxones responsables por la separación entre la parcela Monte y las parcelas fertilizadas con residuos orgánicos son Diptera, Araneae, Agriolimacidae, Formicidae, larvas y Scarabaeidae (Tabla III-2.8).

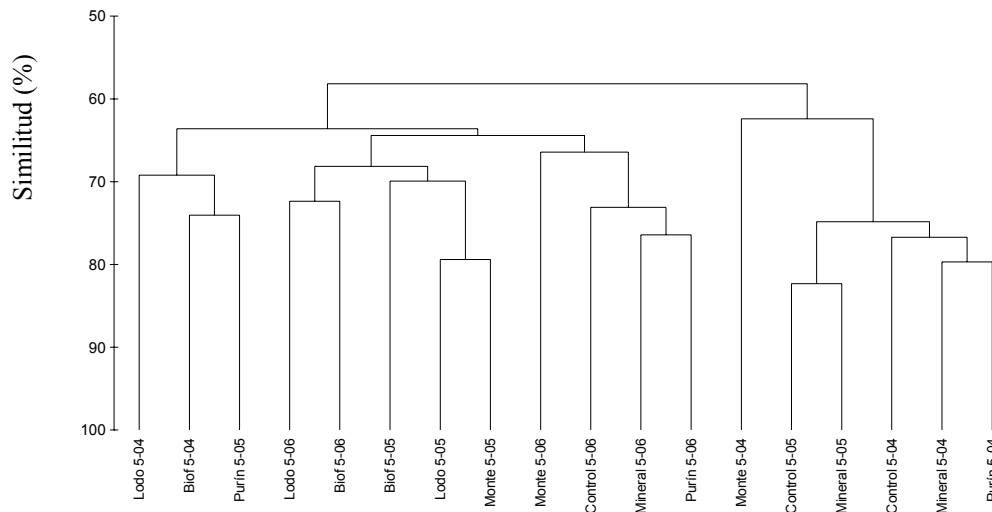


Figura III-2.8. Dendrograma de todos los tratamientos en los muestreos de primavera.
Basado en la matriz de similitud de Bray-Curtis y con las abundancias transformadas en su raíz cuadrada.

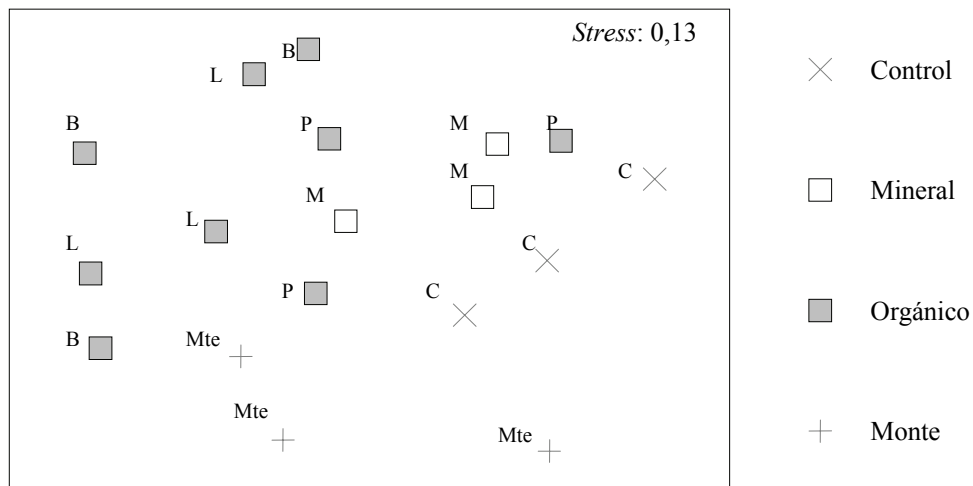


Figura III-2.9. Ordenación MDS de todos los tratamientos en los muestreos de primavera.

Basado en la matriz de similitud de Bray-Curtis y con las abundancias transformadas en su raíz cuadrada.
C: Control, M: Mineral, P: Purín, L: Lodo, B: Biof, Mte: Monte.

Tabla III-2.8. Taxones responsables por la discriminación de grupos utilizando *fertilizer* como factor para los muestreos de primavera.

Taxones	Abundancia media (n° de individuos)		Contribución (%)
<u>C, M</u> ¹	<u>Control (C)</u>	<u>Mineral (M)</u>	
Formicidae	9,67	2,58	8,03
Diptera	26,08	13,25	7,90
Carabidae	18,33	10,67	6,76
Apionidae	3,83	2,50	6,13
Araneae	33,92	29,25	5,77
Curculionidae	5,83	2,00	5,76
<u>C, O</u> ²	<u>Control (C)</u>	<u>Residuos orgánicos (O)</u>	
Carabidae	18,33	3,47	11,03
Araneae	33,92	11,00	10,72
Diptera	26,08	9,06	8,60
Formicidae	9,67	3,50	5,43
<u>M, O</u> ³	<u>Mineral (M)</u>	<u>Residuos orgánicos (O)</u>	
Araneae	29,25	11,00	13,12
Carabidae	10,67	3,47	10,28
Agrilimacidae	1,75	2,47	6,03
Acrididae	2,08	0,64	5,71
Apionidae	2,50	1,89	5,68
Gryllidae	1,92	0,92	5,54
<u>C, S</u> ⁴	<u>Control (C)</u>	<u>Monte (S)</u>	
Carabidae	18,33	2,75	10,38
Araneae	33,92	18,17	8,51
Homoptera	3,33	0,42	5,28
Acrididae	2,25	0,00	5,17
<u>M, S</u> ⁵	<u>Mineral (M)</u>	<u>Monte (S)</u>	
Araneae	29,25	18,17	8,91
Carabidae	10,67	2,75	7,35
Acrididae	2,08	0,00	6,27
Formicidae	2,58	7,50	5,53
<u>O, S</u> ⁶	<u>Residuos orgánicos (O)</u>	<u>Monte (S)</u>	
Diptera	9,06	19,33	7,92
Araneae	11,00	18,17	7,57
Agrilimacidae	2,47	0,08	6,64
Formicidae	3,50	7,50	5,59
larvas	0,89	1,92	5,21
Scarabaeidae	0,06	2,00	5,07

Disimilitud media: ¹28,99 %; ²42,87 %; ³35,33 %; ⁴41,17 %; ⁵38,14 %; ⁶39,54 %.

2.3.3. Discriminación de los tratamientos fertilizantes estudiados

Finalmente, solamente se han podido discriminar los tratamientos fertilizantes estudiados a través de un análisis de similitud en cruz con dos factores (*2-way crossed*): época de muestreo (*season*) y tratamiento fertilizante (*treatment*) (Tabla III-2.9).

Tabla III-2.9. Análisis de similitud cruzado de dos factores (*season* y *treatment*) de las comunidades de macrofauna entre los distintos tratamientos fertilizantes.

Factor	Estadístico r_s	Nivel de significación (p)
<i>Season</i>	0,575	0,001
<i>Treatment</i>	0,219	0,001
<u>Test de pares</u>		
Control vs Mineral	0,113	0,018
Control vs Purín	0,194	0,002
Control vs Lodo	0,481	0,001
Control vs Biof	0,315	0,001
Control vs Monte	0,353	0,001
Mineral vs Purín	0,073	0,060
Mineral vs Lodo	0,237	0,001
Mineral vs Biof	0,150	0,019
Mineral vs Monte	0,317	0,001
Purín vs Lodo	0,214	0,002
Purín vs Biof	0,179	0,006
Purín vs Monte	0,254	0,001
Lodo vs Biof	0,030	0,271
Lodo vs Monte	0,292	0,001
Biof vs Monte	0,121	0,025

r_s : medida comparativa del grado de separación de los tratamientos.

Como ya se había observado en análisis anteriores, se ha podido constatar que la presencia o ausencia de fertilización ha condicionado la composición de las comunidades de macrofauna. Se puede añadir con este análisis que el efecto puede depender del tipo de fertilizante. Para el Mineral y el Purín el efecto ha sido el mismo (aunque el nivel de significación esté muy próximo del 0,05), igual que para el Lodo y el Biof (Tabla III-2.9).

2.3.4. Arañas y Carábidos: posibles indicadores de la intensificación agrícola en praderas de Galicia

En este trabajo, los taxones Carabidae y Araneae han sido los que más peso han tenido en la discriminación de los grupos. Estos dos taxones tienen en común el hecho de ser depredadores polívoros, y la capacidad de poder afectar de forma significativa a las dinámicas poblacionales de varios invertebrados fitófagos y saprófagos (Ekschmitt et al., 1997; Birkhofer et al., 2008a).

Algunos autores consideran que la composición de las comunidades de carábidos y arañas tiene un potencial bioindicador importante. Rainio y Niemela (2003) han revisado el potencial indicador de los carábidos y mostraron que las ventajas de utilizarlos como bioindicadores tienen que ver con la facilidad de obtención de datos de abundancia, la sensibilidad a diferentes factores ambientales y su amplia distribución de hábitat. Pearce y Venier (2006) consideran que las arañas y los carábidos tienen un gran potencial como indicadores ecológicos porque son fácilmente reconocidos en número suficiente para llegar a conclusiones significativas, tienen una taxonomía estable y, en el caso de los carábidos, son fácilmente identificados. Algunos estudios han demostrado que carábidos y arañas, cuando son sometidos a perturbaciones, sufren variaciones equivalentes (Rushton et al., 1989).

Algunos autores proponen los carábidos como indicadores del uso del suelo. Perner y Malt (2003), han evaluado el efecto de la alteración del uso del suelo en las poblaciones de coleópteros y de arañas y proponen la monitorización de estos dos grupos taxonómicos en procesos agrícolas de restablecimiento. En este estudio, Araneae y Carabidae han demostrado sensibilidad a la conversión de monte a pradera, verificándose una mayor abundancia en pradera (Tabla III-2.6).

Las arañas y los carábidos también han sido sensibles a la aplicación de los fertilizantes estudiados. Se considera que los fertilizantes tienen un efecto positivo en el número total de artrópodos depredadores, probablemente provocado por la estimulación del crecimiento de las plantas y por el incremento de poblaciones de presas (Birkhofer et al., 2008b). Sin embargo, en este estudio, tanto arañas como carábidos han sido más abundantes en las parcelas Control y Monte cuando fueron comparadas con las parcelas fertilizadas con residuos orgánicos (Tabla III-2.7).

Aunque sus abundancias han sido inferiores en las parcelas fertilizadas con residuos orgánicos (Tabla III-2.8), no ha quedado claro si la aplicación de dichos residuos afecta negativamente a estos grupos. De entre las parcelas fertilizadas con residuos orgánicos, el Lodo y el Biof han tenido el mismo efecto en las comunidades de macrofauna (Tabla III-2.9). El efecto del Purín se ha aproximado al del Mineral (Tabla III-2.9).

Se propone para estudios futuros profundizar en la identificación de estos dos grupos para obtener datos sobre las abundancias específicas. También se debería evaluar si las especies afectadas son redundantes en relación a la supresión de plagas u otras funciones llevadas a cabo por los individuos de dichos grupos (Birkhofer et al., 2008b).

2.4. Efecto de la variabilidad espacial en los parámetros analizados

Hasta al momento se han analizado las comunidades de macrofauna del suelo capturadas en un ensayo experimental donde se habían establecido diferentes tratamientos fertilizantes (Ensayo Dirigido). En este apartado se ha intentado relacionar los resultados obtenidos con los resultados alcanzados en Parcelas Monitorizadas de mayor superficie y en donde no se ha cambiado el plan de fertilización llevado a cabo por el agricultor: fertilización convencional (abono mineral y purín) y fertilización complementada con lodos de depuradora de industria láctea.

Los factores de variabilidad inducidos y que han permitido la comparación con el ensayo anteriormente discutido fueron: la época de toma de muestras (primavera y otoño), la conversión de monte a pradera, y la incorporación de lodos de depuradora de industria láctea al plan de fertilización.

2.4.1. Caracterización de las comunidades de macrofauna en Parcelas Monitorizadas

2.4.1.1. Evolución temporal de los efectivos y número de taxones

La Tabla III-2.10 presenta las abundancias de individuos y taxones recolectados en el total de las dos fechas de muestreo y por trampa en todas las parcelas.

Tabla III-2.10. Abundancia de la macrofauna del suelo en las Parcelas Monitorizadas en las diferentes fechas de muestreo (n=4) y para el total de los muestreos (n=8).

Fecha de muestreo	Tratamiento					Total
	C1	C2	L1	L2	L3	
						Monte
<u>sep-06</u>						
N	234	124	249	431	376	236
N por trampa	78,0 ± 16,1	31,0 ± 11,3	83,0 ± 40,1	107,8 ± 45,8	94,0 ± 28,3	59,0 ± 8,6
S	12	9	15	11	11	13
S por trampa	8,0 ± 1,0	6,5 ± 0,6	10,7 ± 1,5	8,8 ± 1,3	8,5 ± 0,6	9,0 ± 0,8
<u>may-07</u>						
N	461	891	589	446	429	471
N por trampa	115,3 ± 42,7	222,8 ± 45,6	147,3 ± 58,6	111,5 ± 40,3	107,3 ± 28,4	117,8 ± 42,7
S	22	19	17	13	18	21
S por trampa	14,8 ± 1,5	13,0 ± 1,4	11,5 ± 2,1	9,0 ± 0,8	12,0 ± 0,8	13,3 ± 1,3
<u>Total</u>						
N	695	1015	838	877	805	707
N por trampa	99,3 ± 37,3	126,9 ± 107	119,7 ± 58,6	109,6 ± 40,0	100,6 ± 27,2	88,4 ± 42,4
S	24	19	20	15	20	21
S por trampa	11,9 ± 3,8	9,8 ± 3,6	11,1 ± 1,8	8,9 ± 1,0	10,3 ± 2,0	11,1 ± 2,5
N: número de individuos; S: número de taxones. C1 y C2: parcelas fertilizadas de forma convencional (Purin y abonado Mineral). L1, L2, L3 y L4: parcelas fertilizadas también con lodos desde mayo de 2004, mayo de 2005, mayo de 2006 y noviembre de 2006, respectivamente. n=4.						7,3 ± 2,4
						1853
						231,6 ± 210,5
						13
						31
						10,0 ± 2,8

En los dos muestreos realizados en estas parcelas se han capturado un total de 6790 individuos repartidos en 31 taxones. Al igual que en el ensayo anterior, la abundancia de individuos capturados (N) y el número de taxones (S) a que pertenecían han sido influidas por la fecha de muestreo (d) ($F_{N,d}=61,659$; $p<0,05$ y $F_{S,d}=129,740$; $p<0,05$, respectivamente), y por la parcela (p) ($F_{N,p}=8,061$; $p<0,05$ y $F_{S,p}=10,866$; $p<0,05$, respectivamente).

También ha sido en el muestreo de primavera cuando se han capturado más individuos y más taxones. Sin embargo, en este caso el número de individuos recolectados en este muestreo de primavera ha sido extraordinario. Esto puede tener que ver con características climáticas inherentes al año de muestreo. Mientras que en el otro ensayo se han tomado muestras en las primaveras de 2004, 2005 y 2006, en este caso el muestreo ha sido realizado en mayo de 2007.

Comparando el total de individuos para las distintas parcelas, no se observan diferencias significativas entre la abundancia total de individuos capturados. De una manera general, se ha observado que la parcela de Monte ha presentado un número inferior de taxones y las parcelas C1 y L4 han presentado una mayor diversidad.

2.4.1.2. Distribución por grandes grupos taxonómicos

En general, los grupos taxonómicos dominantes fueron Diptera, Coleoptera y Araneae, representando 82,2 % del total de individuos capturados (Figura III-2.10).

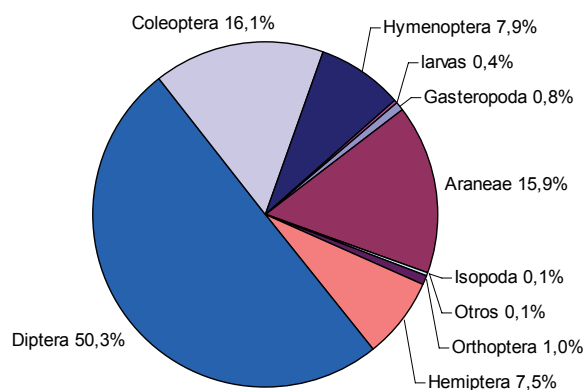


Figura III-2.10. Distribución de los individuos capturados por grupo taxonómico (n=56).

Las abundancias de los distintos grupos han variado entre las diferentes épocas de muestreo ($F_{Nara,d}=26,666$; $F_{Ncol,d}=8,744$; $F_{Ndip,d}=30,397$; $p<0,05$) y entre parcelas ($F_{Nara,p}=5,362$; $F_{Ncol,p}=5,435$; $F_{Ndip,p}=6,175$; $p<0,05$).

La elevada proporción de los grupos Araneae y Coleoptera ha estado de acuerdo con lo observado en el ensayo descrito anteriormente. Sin embargo, en esta situación ha destacado la gran dominancia de los individuos pertenecientes al grupo Diptera y la disminución de la proporción de individuos del grupo Hemiptera.

En general, las abundancias de Araneae, Diptera y Coleoptera han sido superiores en el muestreo realizado en primavera, tal como ha ocurrido en el caso anteriormente descrito (Figura III-2.11).

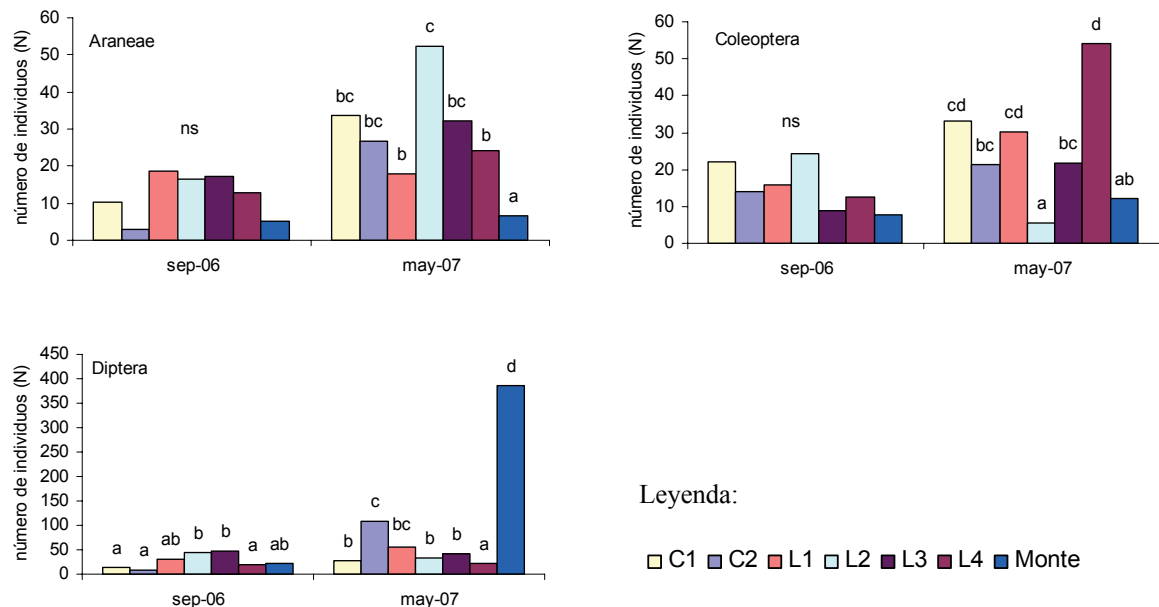


Figura III-2.11. Abundancias de individuos de los grupos taxonómicos Araneae, Diptera y Coleoptera en todas las parcelas en los dos muestreos realizados.

C1 y C2: parcelas fertilizadas de forma convencional (Purin y abonado Mineral). L1, L2, L3 y L4: parcelas fertilizadas también con lodos desde mayo de 2004, mayo de 2005, mayo de 2006 y noviembre de 2006, respectivamente. Para cada grupo, letras distintas en la misma fecha indican diferencias significativas entre tratamientos ($p<0,05$). ns: no significativo.

La parcela Monte ha favorecido la abundancia de los Diptera, de manera impresionante en mayo de 2007, y no ha contribuido a incrementar las abundancias ni de los Coleoptera ni de los Araneae (Figura III-2.11). Dentro de los tratamientos, en primavera se ha observado un incremento de los Coleoptera en las parcelas fertilizadas con lodos L4 y L1 y en la parcela de fertilización convencional C1 (Figura III-2.11).

2.4.2. Índices de diversidad en las comunidades de Parcelas Monitorizadas

La parcela (p) ha afectado los valores de los índices de diversidad calculados para el total de datos de los dos muestreos realizados ($F_{[1-D],p}=26,975$; $F_{d,p}=18,859$; $F_{H',p}=49,058$; $F_{Evar,p}=3,474$; $F_{E1/D,p}=5,841$; $p<0,05$). Solamente el índice de Shannon-Wiener (H') no ha sido afectado por la época de muestreo (d) ($F_{H',d}=1,443$; $p>0,05$).

En general, se puede decir que los índices de diversidad aplicados han permitido diferenciar las parcelas de Monte de las parcelas fertilizadas, con o sin lodos. Las parcelas de Monte han presentado una mayor dominancia (dada por los valores de d y de 1-D) y una menor equidad (dada por los valores de Evar y de $E_{1/D}$) (Figura III-2.12).

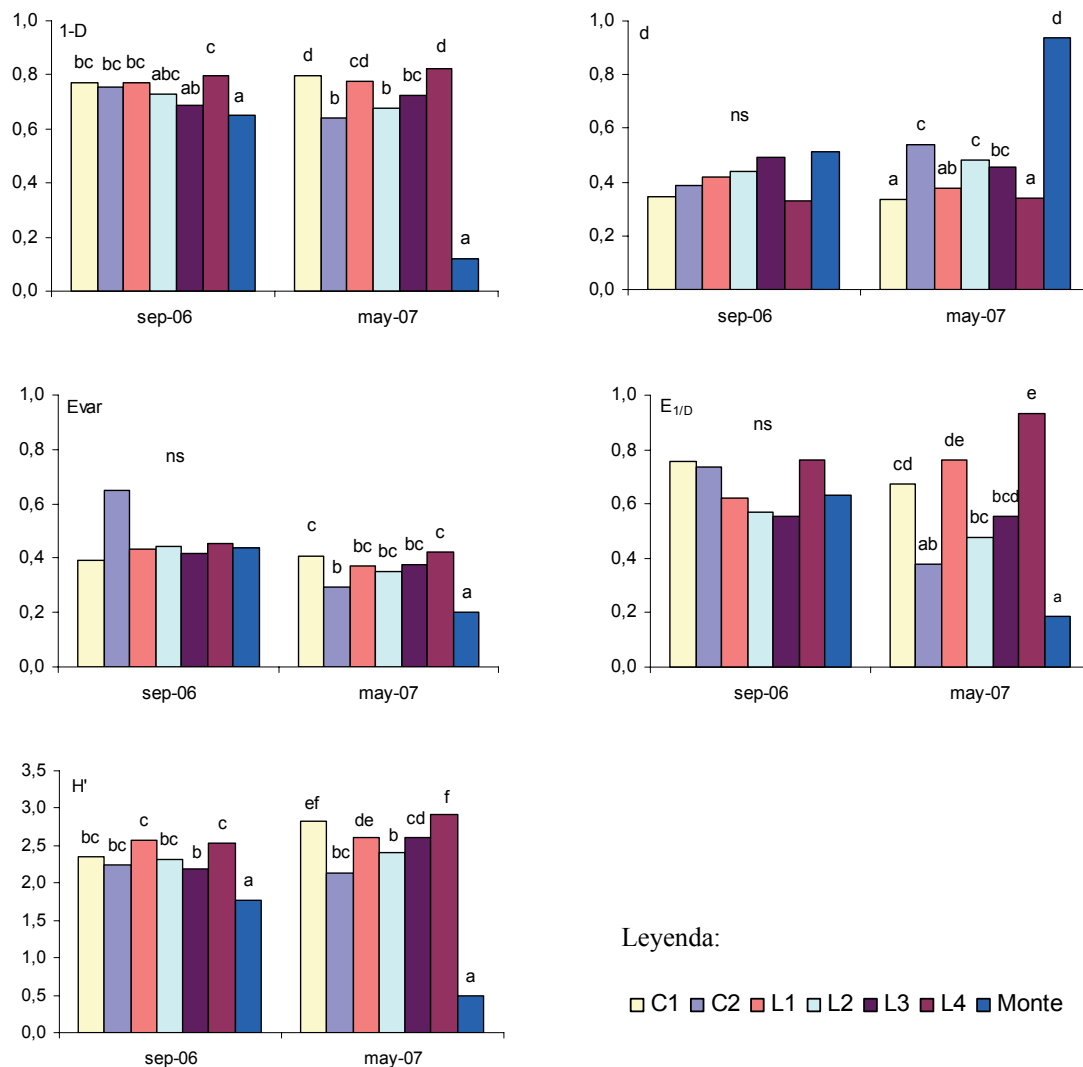


Figura III-2.12. Evolución de los índices de diversidad a lo largo de los dos muestreos. C1 y C2: parcelas fertilizadas de forma convencional (Purín y abonado Mineral). L1, L2, L3 y L4: parcelas fertilizadas también con lodos desde mayo de 2004, mayo de 2005, mayo de 2006 y noviembre de 2006, respectivamente. Para cada grupo, letras distintas en la misma fecha indican diferencias significativas entre tratamientos ($p<0,05$). ns: no significativo.

El valor de estos índices ha estado forzosamente afectado por las grandes abundancias de Diptera en el muestreo de primavera en las parcelas de Monte (Figura III-2.11). También por este motivo, la parcela fertilizada C2 ha sido la que más se ha aproximado al comportamiento observado en la parcela Monte.

Sin embargo, los valores de los índices no han permitido diferenciar las parcelas que han recibido lodos (L) de las que nunca fueron fertilizadas con este residuo orgánico (C). Si exceptuamos la parcela C2, la dominancia y la equidad de las comunidades de macrofauna de todas las parcelas fertilizadas se han mantenido aproximadamente constantes (Figura III-2.12).

Entre las parcelas fertilizadas se ha destacado la parcela L4, que ha presentado valores superiores para la mayoría de los índices calculados. La parcela L4 ha recibido los lodos por primera vez en noviembre de 2006. Además, un mes antes de la toma de muestras de mayo de 2007, esta parcela había sido abonada con purín y fertilizante nitrogenado. Sin embargo, L3 ha tenido un plan de fertilización idéntico en el último año sin que eso se haya hecho sentir en la variación de los índices de diversidad. Puede que otras características de la parcela, como algún parámetro físico-químico del suelo, hayan influido en la respuesta de la comunidad de macrofauna en la parcela L4.

En este estudio, al igual que en el ensayo anterior, tampoco ha sido posible diferenciar los distintos planes de fertilización a través del cálculo de índices de diversidad de las comunidades de macrofauna.

2.4.3. Discriminación de grupos en Parcelas Monitorizadas

Los principales resultados del ANOSIM referentes a las Parcelas Monitorizadas se pueden consultar en la Tabla III-2.11.

Para el total de los datos obtenidos para las comunidades de macrofauna, los tres factores analizados han permitido discriminar las parcelas de forma significativa (Tabla III-2.11). Se han representado los datos realizando un análisis de agrupamiento (*cluster*) cuyos resultados se muestran en el dendrograma (Figura III-2.13) y también se ha utilizado un método de ordenación multidimensional no métrico (MDS) (Figura III-2.14).

Tabla III-2.11. Análisis de similitud para los factores *season*, *shrub* y *fertilizer* utilizando todos los datos de abundancia.

Estadísticos	Factores		
	<i>Season</i>	<i>Shrub</i>	<i>Fertilizer</i>
Estadístico r_s	0,460	0,607	0,414
Nivel de significación (p)	0,001	0,033	0,011
Test de pares (r_s ; p)			C, L (0,263; 0,075) C, Mte (0,179; 0,333) L, Mte (0,789; 0,022)

C: convencional, L: con lodos, Mte: Monte. *Season*: Época de muestreo, *Shrub*: Monte vs pradera, *Fertilizer*: Convencional vs Lodo vs Monte. r_s : medida comparativa del grado de separación de las parcelas.

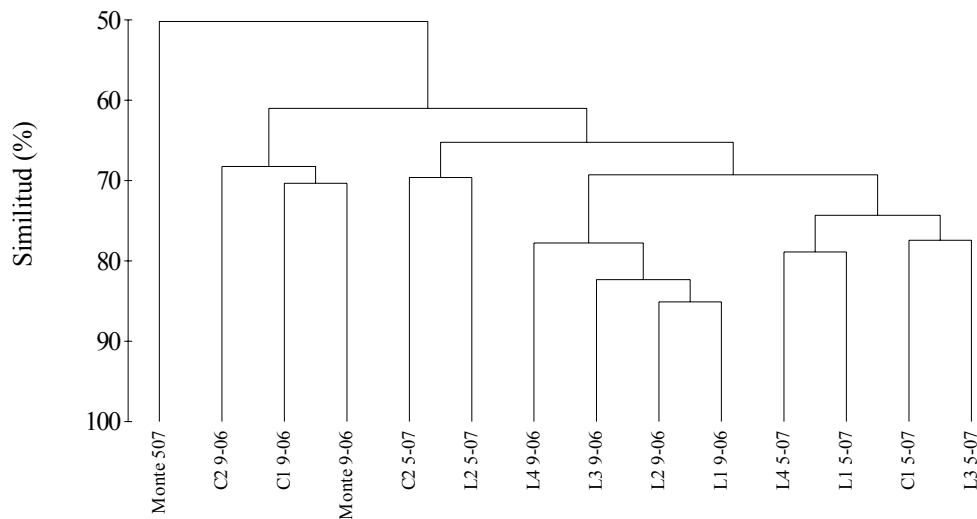


Figura III-2.13. Dendrograma de todas las parcelas y todas las fechas de muestreo.

Basado en la matriz de similitud de Bray-Curtis y con las abundancias transformadas en su raíz cuadrada.

C1 y C2: parcelas fertilizadas de manera convencional (Purín y abonado Mineral). L1, L2, L3 y L4: parcelas fertilizadas también con lodos desde mayo de 2004, mayo de 2005, mayo de 2006 y noviembre de 2006, respectivamente.

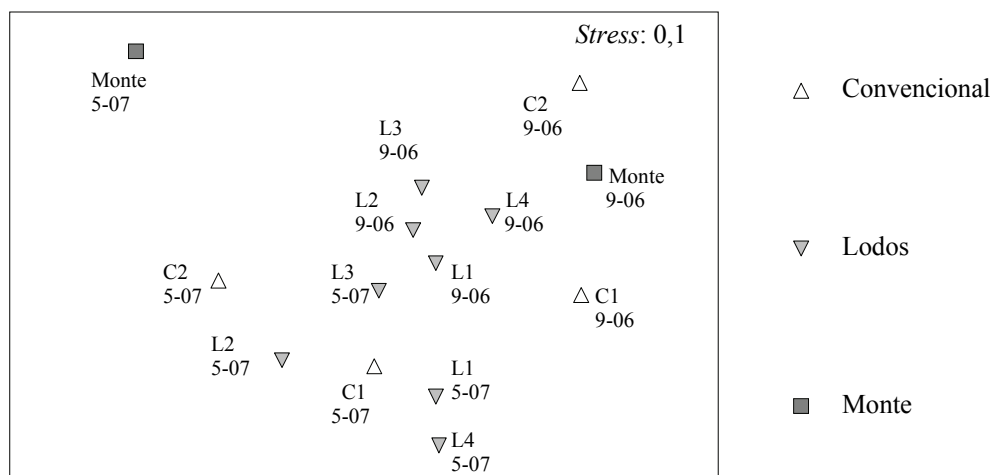


Figura III-2.14. Ordenación MDS de todas las parcelas y de todas las fechas de muestreo.

Basado en la matriz de similitud de Bray-Curtis y con las abundancias transformadas en su raíz cuadrada.

C1 y C2: parcelas fertilizadas de manera convencional (Purín y abonado Mineral). L1, L2, L3 y L4: parcelas fertilizadas también con lodos desde mayo de 2004, mayo de 2005, mayo de 2006 y noviembre de 2006, respectivamente.

2.4.3.1. Efecto de la época de muestreo (factor season)

El factor *season* ha permitido diferenciar significativamente el muestreo realizado en primavera del muestreo realizado en otoño ($r_s=0,460$; $p=0,001$) (Tabla III-2.11).

La separación entre el muestreo de otoño y el muestreo de primavera se ha debido sobre todo al taxón Diptera (Tabla III-2.12). Este resultado era de esperar dada la gran proporción de este grupo en las abundancias totales (Figura III-2.10).

Tabla III-2.12. Taxones responsables de la discriminación de grupos utilizando *season* como factor.

Taxones	Abundancia media (número de individuos)		Contribución %
	otoño	primavera	
Diptera	27,05	96,43	17,45
Araneae	11,93	27,61	9,35
Homoptera	0,83	9,04	7,77
Curculionidae	0,68	4,14	5,97
Vespidae	0,32	2,89	5,77
Formicidae	9,13	7,68	5,44

Disimilitud media: 39,34 %

Le siguen los taxones Araneae y Homoptera, tal como se ha verificado en el caso del ensayo descrito anteriormente. Sin embargo, al revés de lo observado para el caso

anterior, los individuos del grupo Homoptera han sido más abundantes en primavera. Esta diferencia puede deberse al hecho de que el muestreo de otoño, en este caso, se ha realizado en septiembre y no en noviembre como ha ocurrido en el otro caso. Véase el porcentaje de disimilitud medio entre parcelas que en este caso ha sido 39,34 %, mientras que en el anterior ha alcanzado 61,08 %.

2.4.3.2. Efecto de la conversión de monte en pradera (factor shrub)

El factor *shrub* tuvo por objetivo diferenciar las parcelas de prado fertilizadas (F) de las parcelas de Monte (Mte). El ANOSIM ha comprobado la significación de la discriminación de estos dos grupos ($r_s=0,607$; $p=0,033$) (Tabla III-2.13). En las representaciones gráficas es clara la separación de la parcela Monte respecto a las demás parcelas en el muestreo de primavera (Figuras III-2.13 y III-2.14).

El taxón responsable de la separación de estos dos grupos ha sido fundamentalmente el de los Díptera, seguidos por los Araneae, Heteroptera, Homoptera, Formicidae y Chrysomelidae (Tabla III-2.13).

Tabla III-2.13. Taxones responsables de la discriminación de grupos utilizando shrub como factor.

Taxones	Abundancia media (número de individuos)		Contribución %
	parcelas fertilizadas/pradera (F)	Monte (Mte)	
Diptera	37,80	205,38	28,68
Araneae	22,08	5,88	9,08
Heteroptera	5,04	0,50	6,16
Homoptera	5,76	0,00	6,04
Formicidae	8,60	7,25	5,69
Chrysomelidae	2,13	0,00	5,55

Disimilitud media: 44 %

Si se consideran solamente los datos del muestreo de primavera, y para que se puedan comparar los resultados con el caso anterior, se ha comprobado que los taxones responsables de la disimilitud entre las parcelas fertilizadas (F) y la parcela Monte (Mte) fueron Díptera, Araneae, Carabidae y Homoptera (Tabla III-2.14). Aparte de los Homoptera, todos los demás han sido también los taxones responsables de la separación entre estos dos grupos en el caso anteriormente descrito.

Tabla III-2.14. Taxones responsables de la discriminación de grupos utilizando *shrub* como factor, en primavera.

Taxones	Abundancia media (número de individuos)		Contribución %
	parcelas fertilizadas/pradera (F)	Monte (Mte)	
Diptera	47,96	387,25	38,54
Araneae	31,13	6,50	8,83
Carabidae	13,25	4,25	5,57
Homoptera	10,24	0,00	5,50

Disimilitud media: 52,89%. $r_s = 0,842$ y $p = 0,001$. r_s : medida comparativa del grado de separación de las parcelas.

2.4.3.3. Efecto de la aplicación de residuos orgánicos (factor *fertilizer*)

Con el factor *fertilizer* se pretendían separar los siguientes grupos: Convencional (parcelas fertilizadas tradicionalmente con fertilizantes químicos y purín), Lodo (parcelas fertilizadas a mayores con lodos de depuradora de industria láctea) y Monte (parcela no fertilizada ubicada en las inmediaciones de las otras parcelas). Según los resultados mostrados en la Tabla III-2.11, el análisis ha sido significativo ($r_s = 0,414$; $p = 0,011$).

Tabla III-2.15. Taxones responsables de la discriminación de los grupos de las parcelas Convencional, Lodos y Monte utilizando *fertilizer* como factor.

Taxones	Abundancia media (número de individuos)		Contribución (%)
	Convencional (C)	Lodos (L)	
<u>C; L</u> ¹			
Diptera	39,40	37,00	13,57
Homoptera	13,50	1,89	9,88
Araneae	18,40	23,93	9,71
Formicidae	9,90	7,95	7,02
Curculionidae	1,50	3,31	6,13
<u>C; Mte</u> ²			
Diptera	39,40	205,38	30,44
Homoptera	13,50	0,00	9,80
Araneae	18,40	5,88	7,17
Crysomelidae	3,17	0,00	6,73
Formicidae	9,90	7,25	6,32
Carabidae	13,69	5,63	5,36
<u>L; Mte</u> ³			
Diptera	37,00	205,38	27,76
Araneae	23,93	5,88	10,10
Heteroptera	5,51	0,50	6,81
Formicidae	7,95	7,25	5,35

Disimilitud media: ¹34,44%; ²45,63%; ³43,18%.

Sin embargo, los test de pares solo han reconocido la distinción entre el grupo de las parcelas abonadas con lodos (Lodo) del grupo de la parcela que no ha recibido fertilización (Monte) ($r_s=0,789$; $p=0,022$). Según las representaciones gráficas, la separación de estos tres grupos se ha producido en el muestreo de otoño, sin embargo en el muestreo de primavera las parcelas Convencional han aparecido mezcladas con las parcelas Lodo (Figuras III-2.13 y III-2.14).

El análisis multivariante de las comunidades de fauna del suelo en las Parcelas Monitorizadas, en donde no se ha cambiado el plano de fertilización existente, ha permitido diferenciar las parcelas que han sido abonadas con lodos de las parcelas que no han recibido ningún tipo de fertilización (Monte).

Las parcelas fertilizadas con Lodo y la parcela Monte han diferido sobre todo respecto a las abundancias de Diptera, Araneae, Heteroptera y Formicidae (Tabla III-2.15). Los Diptera han sido más abundantes en la parcela Monte, mientras que en las parcelas fertilizadas con Lodo han sido superiores las abundancias de los restantes taxones referidos. Las abundancias superiores de Diptera en las parcelas de Monte pueden estar relacionadas con la aplicación de pesticidas, por parte del agricultor, para combatir la tía en invierno en todas las parcelas fertilizadas.

Cuando se han considerado solamente los datos de primavera, se han detectado diferencias significativas entre las parcelas fertilizadas (Convencional o Lodos) y el Monte ($r_s=0,910$; $p=0,002$ y $r_s=0,888$; $p=0,001$) (Tabla III-2.16). Los taxones comunes responsables por las diferencias observadas han sido Diptera, Araneae y Carabidae (Tabla III-2.16).

No ha sido posible diferenciar las parcelas fertilizadas de manera convencional de las parcelas que han llevado lodos ($r_s=0,109$; $p=0,106$) (Tabla III-2.16).

Tabla III-2.16. Taxones responsables de la discriminación de los grupos de las parcelas Convencional, Lodos y Monte utilizando *fertilizer* como factor, en primavera.

Taxones	Abundancia media (número de individuos)		Contribución (%)
<u>C; L</u> ¹	Convencional (C)	Lodos (L)	
Diptera	67,50	38,19	12,57
Homoptera	25,38	3,13	12,14
Formicidae	6,00	9,94	7,12
Araneae	30,25	31,56	6,50
Carabidae	12,25	13,75	6,37
Chrysomelidae	4,75	0,63	6,15
Agrilimacidae	3,50	1,50	5,87
<u>C; Mte</u> ²	Convencional (C)	Monte (Mte)	
Diptera	67,50	387,25	33,93
Homoptera	25,38	0,00	10,06
Araneae	30,25	6,50	8,47
Heteroptera	5,88	0,25	5,98
Crysomelidae	4,75	0,00	5,37
Carabidae	12,25	4,25	5,03
<u>L; Mte</u> ³	Lodos (L)	Monte (Mte)	
Diptera	38,19	387,25	40,75
Araneae	31,56	6,50	9,01
Carabidae	13,75	4,25	5,84

$r_s=0,452$ y $p=0,001$ (¹ $r_s=0,109$ y $p=0,106$; ² $r_s=0,910$ y $p=0,002$; ³ $r_s=0,888$ y $p=0,001$). Disimilitud media: ¹38,71 %; ²51,47 %; ³53,60 %.
 r_s : medida comparativa del grado de separación de las parcelas.

2.5. Síntesis de los resultados obtenidos en el Ensayo Dirigido y en las Parcelas Monitorizadas (agricultores)

El número total de individuos capturados en los dos ensayos ha sido semejante, aunque en el Ensayo Dirigido se hayan efectuado cinco tomas de muestras frente a dos en las Parcelas Monitorizadas. Esto ha tenido que ver sobre todo con el incremento en la abundancia de individuos del orden Diptera en las parcelas Monte (mayo de 2007). Considerando el número de taxones capturados, se ha observado un mayor valor en el Ensayo Dirigido (Tabla III-2.17), posiblemente debido a la realización de más muestreos, lo que puede haber contribuido a la captura de taxones menos frecuentes.

En las dos situaciones estudiadas, tanto la abundancia, como la riqueza de taxones han estado influidas por la época de muestreo y por el tratamiento fertilizante/parcela. Lo mismo ha ocurrido con las abundancias de los taxones dominantes: Araneae, Coleoptera y Diptera.

Tabla III-2.17. Comparación entre el Ensayo Dirigido y las Parcelas Monitorizadas: caracterización general de las comunidades e índices de diversidad.

Parámetro	Ensayo dirigido	Parcelas Monitorizadas
<u>Caracterización general de las comunidades de macrofauna</u>		
N total	6496	6790
S total	42	31
Taxones dominantes	Ara> Col> Dip> Hemi	Dip> Col> Ara
Época de abundancias superiores	primavera	primavera
Tratamiento/Parcela que presentan abundancias superiores	Control (Ara y Col)	C1, L1 y L4 (Col) Monte (Dip)
<u>Índices de diversidad (Id)</u>		
Id influidos por la época	1-D, d, H'	1-D, d, Evar, E_{1/D}
Id influidos por el tratamiento/parcela	Evar, E_{1/D}	1-D, d, Evar, E_{1/D}
Dominancia	No hay diferencias.	Monte>parcelas fertilizadas.
Equidad	Evar: L>C,P (5-2004); P>C (5-2005); L,B>C, monte (5-2006). E1/D: L,B>M,monte (5-2004); L,B,P,monte>C,M (5-2005).	Evar: C1,L4>C2,Monte (5-2007) E1/D: C1, L1, L4>C2, Monte (5-2007)

Ara: Araneae, Hemi: Hemiptera, Dip: Diptera, Col: Coleoptera. 1-D- índice de diversidad de Simpson, H'- índice de Shannon-Wiener, Evar- índice de equidad de Smith y Wilson, E_{1/D}- medida de equidad de Simpson, d- índice de Berger-Parker. C- Control, M- Mineral, P- Purín, L- Lodo, B- Biof. C1 y C2- parcelas fertilizadas de forma convencional (Purín y abonado Mineral). L1, L2, L3 y L4- parcelas fertilizadas también con lodos desde mayo de 2004, mayo de 2005, mayo de 2006 y noviembre de 2006, respectivamente. En negrita se indica los resultados comunes en los dos ensayos. ns: diferencias no significativas.

Los índices que miden la equidad en la distribución de los individuos dentro de las comunidades (E_{1/D} y Evar) han permitido obtener más conclusiones que los índices de dominancia (d y 1-D), sobre todo en el primer ensayo. En el Ensayo Dirigido, de una manera general, las comunidades de las parcelas abonadas con residuos orgánicos han presentado una equidad superior a la mostrada por las parcelas sometidas a los demás tratamientos. En el otro ensayo, las parcelas L1 y L4 (abonadas con lodos) y la parcela C1 (abonada de manera convencional) han presentado comunidades más equitativas que la parcela Monte y la parcela C2 (abonada convencionalmente). En ningún caso, el índice de Shannon-Wiener ha sido afectado por el tratamiento fertilizante/parcela.

El análisis multivariante ha permitido evaluar la influencia de diferentes factores en las comunidades de macrofauna y también identificar los taxones responsables por las diferencias encontradas entre tratamientos/parcelas. El factor *season* ha sido significativo en los dos ensayos a la hora de diferenciar entre los muestreos realizados

en primavera y en otoño. Los taxones comunes responsables de estas diferencias han sido: Homoptera, Araneae, Diptera, Formicidae y Curculionidae (Tabla III-2.18).

Tabla III-2.18. Comparación entre el Ensayo Dirigido y las Parcelas Monitorizadas: análisis multivariante.

Factor	Ensayo dirigido	Parcelas Monitorizadas
<u>Total de los datos</u>		
<i>Season</i>	primavera ≠ otoño (61,08 %) Homo, Ara, Hete, Cara, Dip, Formi, Curcu.	primavera ≠ otoño (39,34 %) Dip, Ara, Homo, Curcu, Vesp, Formi, Cara.
<i>Shrub</i>	ns	pradera □ Monte
<i>Control</i>	ns	--
<i>Fertilizer</i>	ns	L □ Monte
<u>Datos primavera</u>		
<i>Shrub</i>	pradera ≠ monte (39,39 %) Ara, Dip, Cara, Agri.	pradera ≠ monte (52,89 %) Dip, Ara, Cara, Homo.
<i>Control</i>	C □ F (39,40 %) Cara, Ara, Dip, Formi, Curcu, Apio. F □ monte (39,19 %) Ara, Dip, Agri, Formi, Cara, larvas.	--
<i>Fertilizer</i>	C □ O (42,87 %) Cara, Ara, Dip, Formi.	convencional □ monte (51,47 %) Dip, Homo, Ara, Hete, Chryso, Cara. Lodo □ Monte (53,60 %) Dip, Ara, Cara.
<u>Datos otoño</u>		
<i>Shrub</i>	ns	p<0,001
<i>Control</i>	ns	--
<i>Fertilizer</i>	ns	p<0,001

Agrio: Agriolimacidae, Ara: Araneae, Homo: Homoptera, Hete: Heteroptera; Dip: Diptera, Cara: Carabidae, Curcu: Curculionidae, Apio: Apionidae, Api: Apidae, Chryso: Chrysomelidae, Formi: Formicidae; Vesp: Vespidae; L: larvas. C- Control, M- Mineral, P- Purín, L- Lodo, B- Biof. C1 y C2- parcelas fertilizadas de forma convencional (Purín y abonado Mineral). L1, L2, L3 y L4- parcelas fertilizadas también con lodos desde mayo de 2004, mayo de 2005, mayo de 2006 y noviembre de 2006, respectivamente. En negrita se indican los resultados comunes en los dos ensayos.

Los otros factores no han sido significativos para diferenciar los tratamientos analizados en el Ensayo Dirigido, pero si que han permitido diferenciar grupos en las Parcelas Monitorizadas (pero no diferenciar los planes de fertilización: convencional vs lodos).

Considerando por separado los datos obtenidos en los muestreos de primavera y de otoño, todos los factores han permitido diferenciar tratamientos/parcelas en los dos ensayos cuando se han considerado los muestreos de primavera.

En primavera, el análisis de las comunidades de macrofauna ha permitido diferenciar las parcelas de prado de las parcelas de Monte en los dos ensayos. Diptera, Araneae y Carabidae han sido los taxones comunes responsables de estas diferencias. Los mismos taxones han explicado las diferencias observadas en las parcelas abonadas con residuos orgánicos y las parcelas Control en el Ensayo Dirigido. En el caso de las Parcelas Monitorizadas estos taxones han permitido diferenciar las parcelas fertilizadas convencionalmente (C) de la parcela Monte y las parcelas fertilizadas con lodos (L) de las parcelas de Monte. No ha sido posible distinguir entre las parcelas fertilizadas convencionalmente y las parcelas donde se han aplicado lodos.

En el Ensayo Dirigido, ha sido posible diferenciar las parcelas de prado sometidas a la aplicación de residuos orgánicos de las parcelas Control y de Monte. También se ha comprobado, a través del ANOSIM en cruz, que los tratamientos Lodo y Biof habían favorecido la aparición de comunidades de macrofauna similares y eventualmente con una menor riqueza y abundancia de taxones. Aunque los resultados obtenidos en las Parcelas Monitorizadas hayan seguido la misma tendencia observada en el Ensayo Dirigido para algunos factores analizados, en estas parcelas no ha sido posible diferenciar los diferentes planes de fertilización. El hecho de que la aplicación de residuos orgánicos haya producido diferencias significativas entre tratamientos detectables en mayor medida en el Ensayo Dirigido que en las Parcelas Monitorizadas puede tener varias justificaciones posibles que incluyen la diferencia en la escala espacial. También Bengtsson et al. (2005), en un meta-análisis de los efectos de la agricultura ecológica en la biodiversidad y abundancia, han verificado un efecto más pronunciado en los estudios realizados a pequeña escala (con control explícito sobre ellas) de lo que a la escala de granja (sin control explícito sobre ellas) o superior. Según estos autores, las prácticas agrícolas solamente explican parte de la variación en la biodiversidad en los paisajes agrícolas. En pequeñas parcelas experimentales los efectos de diferentes prácticas agrícolas pueden ser el resultado de respuestas de comportamientos y de decisiones individuales, mientras que en escalas superiores los efectos observados pueden ser capaces de reflejar diferencias en las dinámicas poblacionales, que operan a escalas muy superiores a unos pocos metros cuadrados.

Según lo dicho anteriormente, se puede considerar que, en este estudio, la adición de lodos al plan de fertilización convencional utilizado en praderas de Galicia no ha afectado negativamente al ecosistema y que, en la monitorización de esta práctica, se deben incluir estudios a escalas que engloben las unidades socio-económicas para las que se toman las decisiones sobre el manejo agrícola (finca o superior).

2.6. Indicador global da calidad del suelo (GISQ)

Actualmente la tendencia en la búsqueda de indicadores basados en las comunidades de fauna del suelo consiste en integrar análisis multivariantes y multiparamétricos para obtener índices que integren en un único valor toda la información de la comunidad y del suelo. Es el caso del Índice Global de Calidad del Suelo (GISQ) usado a continuación, con el que veremos si se obtiene la misma tendencia.

2.6.1. Construcción del GISQ

En las Figuras III-2.15-III-2.17 se representan los círculos de correlación y los tratamientos en dos ejes obtenidos con las variables correspondientes a cada tipo de subindicador: Macrofauna, Químico y Materia Orgánica (MO).

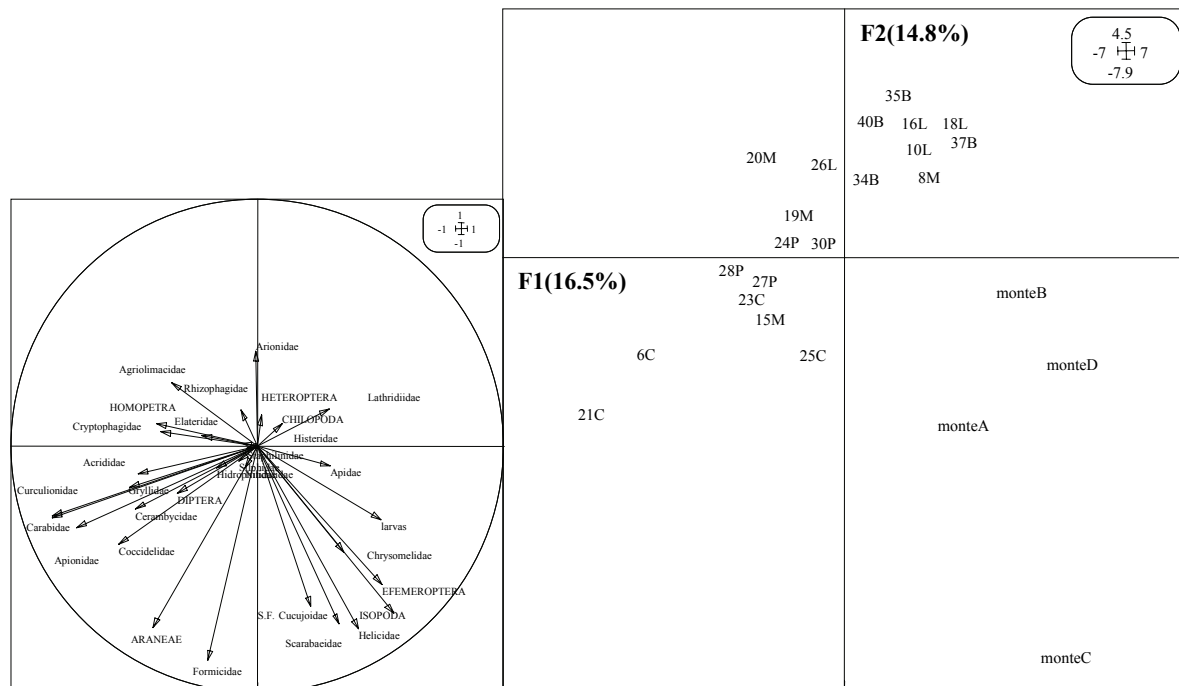


Figura III-2.15. Círculo de correlación y representación de los tratamientos en dos ejes obtenidos con los datos de macrofauna.
C: Control; M: Mineral; L: Lodo; P: Purín; B: Biof.

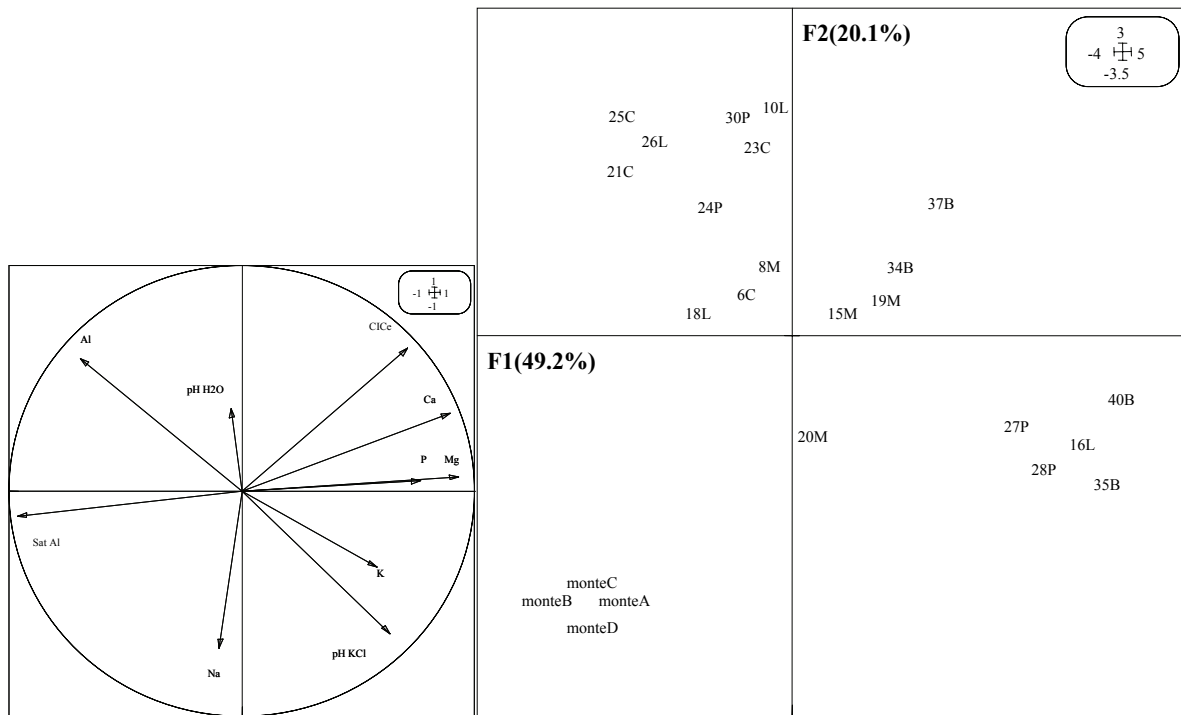


Figura III-2.16. Círculo de correlación y representación de los tratamientos en dos ejes obtenidos con las características químicas del suelo.

C: Control; M: Mineral; L: Lodo; P: Purín; B: Biof. CECe: capacidad de intercambio catiónico efectiva. Sat Al: saturación en Al.

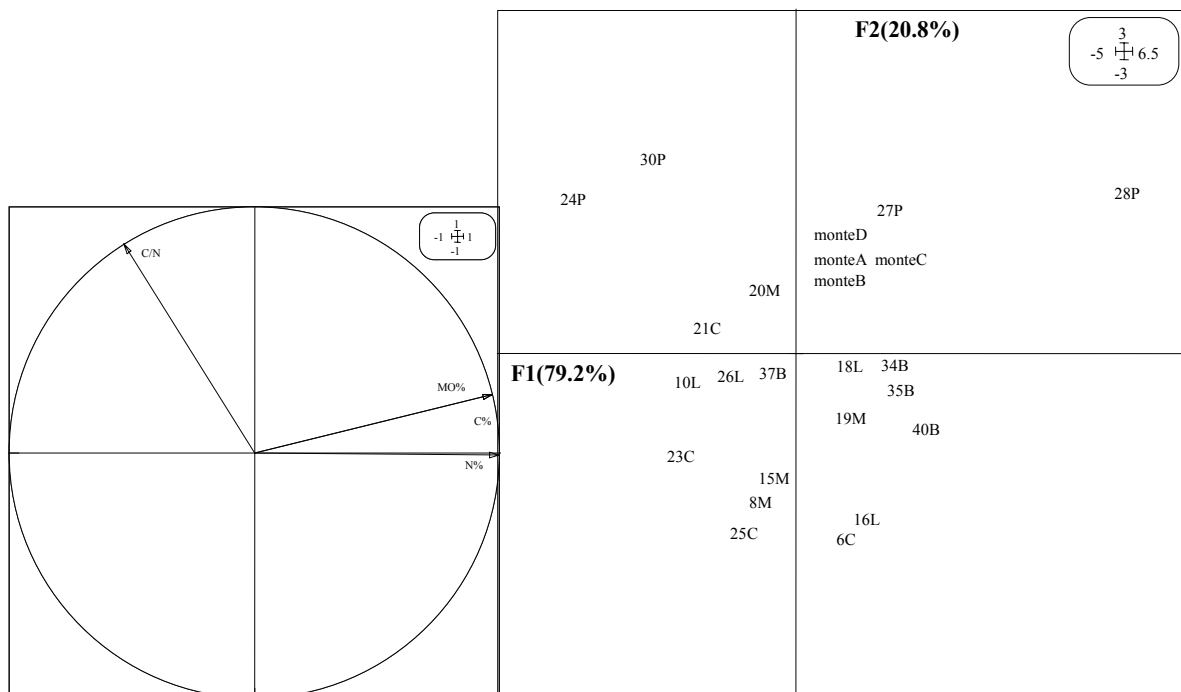


Figura III-2.17. Círculo de correlación y representación de los tratamientos en dos ejes obtenidos con los datos de materia orgánica.

C: Control; M: Mineral; L: Lodo; P: Purín; B: Biof.

Las variables seleccionadas para el cálculo de los subindicadores se muestran en la Tabla III-2.19.

Tabla III-2.19. Variables seleccionadas para el cálculo de cada uno de los subindicadores y su respectiva contribución para los ejes F1 y F2 del círculo de correlación.

Subindicador	Variables seleccionadas y su contribución para F1 y F2								
<u>Macrofauna</u>	<u>Heli</u>	<u>Ara</u>	<u>Iso</u>	<u>Cara</u>	<u>Curcu</u>	<u>Apio</u>	<u>Scara</u>	<u>S.F.Cucu</u>	<u>Formi</u>
F1	-321	340	-579	1307	1308	1014	-209	-89	75
F2	-1164	1143	969	180	168	232	1094	895	1597
<u>Químico</u>	<u>pH KCl</u>	<u>P</u>	<u>Ca</u>	<u>Mg</u>	<u>Na</u>	<u>Al</u>	<u>Sat. Al</u>	<u>CIC_e</u>	
F1	-824	-1193	-1626	-1763	18	974	1876	-1034	
F2	-1981	9	587	18	-2410	1713	-61	1983	
<u>MO</u>	<u>% C</u>	<u>% N</u>	<u>C/N</u>						
F1	2979	3151	-887						
F2	675	-1	8651						

Heli: Helicidae, Ara: Araneae, Iso: Isopoda, Cara: Carabidae, Curcu: Curculionidae, Apio: Apionidae, Scara: Scarabaeidae, S.F.Cucu: Super-familia Cucujoidea, Formi: Formicidae.

Sat Al: saturación en aluminio; CIC_e: capacidad de intercambio catiónico efectiva; MO: materia orgánica.

Considerando que los valores de los subindicadores varían entre 0 y 1, se ha observado que, en general, se han alcanzado los valores más bajos para el subindicador MO (Tabla III-2.20).

Tabla III-2.20. Valores obtenidos (media \pm desviación típica) para cada uno de los subindicadores y para el GISQ en cada uno de los tratamientos estudiados

Tratamiento	subindicador							GISQ								
	Macrofauna			Químico		MO										
Control	0,78	±	0,21	c	0,68	±	0,17	bc	0,23	±	0,13	a	0,75	±	0,24	de
Mineral	0,38	±	0,17	ab	0,63	±	0,05	b	0,33	±	0,15	ab	0,50	±	0,08	bc
Purín	0,58	±	0,19	bc	0,78	±	0,05	c	0,70	±	0,22	d	0,55	±	0,17	cd
Lodo	0,15	±	0,10	a	0,73	±	0,22	abc	0,33	±	0,13	ab	0,28	±	0,15	ab
Biof	0,18	±	0,10	a	0,93	±	0,10	c	0,45	±	0,06	bc	0,18	±	0,10	a
Monte	0,45	±	0,13	b	0,10	±	0,00	a	0,60	±	0,00	cd	0,85	±	0,13	e

Para cada columna, letras diferentes significan la existencia de diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$) para el test DMS.

El hecho de que el nivel inicial de MO en el suelo fuera elevado, puede no haber permitido observar cambios después de aplicar los diferentes tratamientos. Por otro lado, los bajos valores conseguidos con este subindicador pueden deberse al hecho de haberse utilizado un número menor de variables para su cálculo que para los demás

subindicadores. Otras de las variables propuestas por Velásquez et al. (2007) incluyen distintas formas de N (N-NO_3^- o N-NH_4^+), la mineralización del C orgánico y el contenido de C en tres fracciones de densidad.

El subindicador Macrofauna ha presentado valores significativamente superiores en las parcelas Control, Purín y Monte, haciendo suponer una alteración de la estructura de las comunidades en las parcelas Mineral, Lodo y Biof (Tabla III-2.20). Para las parcelas Lodo y Biof esta tendencia ya había sido puesta en evidencia en la sección 2.3 de este capítulo, en el que se han analizado los datos de las comunidades de macrofauna a través de técnicas multivariantes.

El subindicador Químico ha sido superior en las parcelas fertilizadas con los residuos orgánicos (Purín, Lodo y Biof) (Tabla III-2.20). Este resultado está de acuerdo con los resultados presentados y discutidos anteriormente en la sección 1 de este capítulo, en el cual se ha analizado el impacto de los residuos orgánicos en las propiedades químicas del suelo.

Utilizando los tres subindicadores y su contribución para la formación de los dos ejes F1 y F2 (que explican el 47,5 % y el 28,0 % de la variabilidad, respectivamente) se han determinado los coeficientes para crear la fórmula del GISQ (Tabla III-2.21). Así, la fórmula del GISQ para esta situación ha sido la siguiente:

$$\text{GISQ} = 2,7 \text{ Macrofauna} - 2,1 \text{ Químico} - 0,1 \text{ MO}.$$

Tabla III-2.21. Contribución e inercia de cada uno de los subindicadores y cálculos de los coeficientes para la fórmula del GISQ.

Subindicador	F1			F2			Subindicador (suma/1000)
	Contribución	Inercia	Contribución x Inercia	Contribución	Inercia	Contribución x Inercia	
Macrofauna	2858	0,475	1.357,55	4923	0,280	1.378,44	2,74
Químico	-4328	0,475	-2.055,80	0	0,280	0	-2,06
MO	2812	0,475	1.335,70	-5076	0,280	-1.421,28	-0,09

Por ejemplo, para obtener el coeficiente para el subindicador Macrofauna se han realizado los siguientes cálculos: $[(2858 \times 0,475) + (4923 \times 0,280)] \div 1000 = 2,74$.

El valor de GISQ para los diferentes tratamientos en el muestreo utilizado (mayo de 2004) está indicado en la Tabla III-2.20. La parcela de Monte y la parcela Control han presentado valores significativamente más elevados para este indicador. Es posible que la conversión de monte a pradera no haya favorecido la alteración de la calidad global

del suelo. Entre los tratamientos fertilizantes, las parcelas abonadas con Lodo y Biof han presentado los valores más bajos (Tabla III-2.20). La baja calidad global indicada por el GISQ para las parcelas abonadas con estos dos residuos orgánicos se debe en gran parte al valor del subindicador Macrofauna. Asimismo, el estudio de las comunidades de macrofauna se ha manifestado importante en la evaluación del impacto de estos residuos en la calidad global del suelo pues, si solamente se hubiera considerado las características químicas, la interpretación sobre la calidad de estos suelos sería parcial y positivista. Así que a la hora de aplicar residuos orgánicos en el suelo se debe considerar su efecto en la macrofauna del mismo.

2.6.2. Validación del GISQ

2.6.2.1. A nivel temporal

Después de crear el GISQ con los datos del muestreo de mayo de 2004 del Ensayo Dirigido, se ha aplicado la fórmula obtenida a los datos de las cuatro restantes épocas de muestreo para evaluar la evolución temporal del indicador global. Se han representado los valores obtenidos en un círculo de correlación (Figura III-2.18).

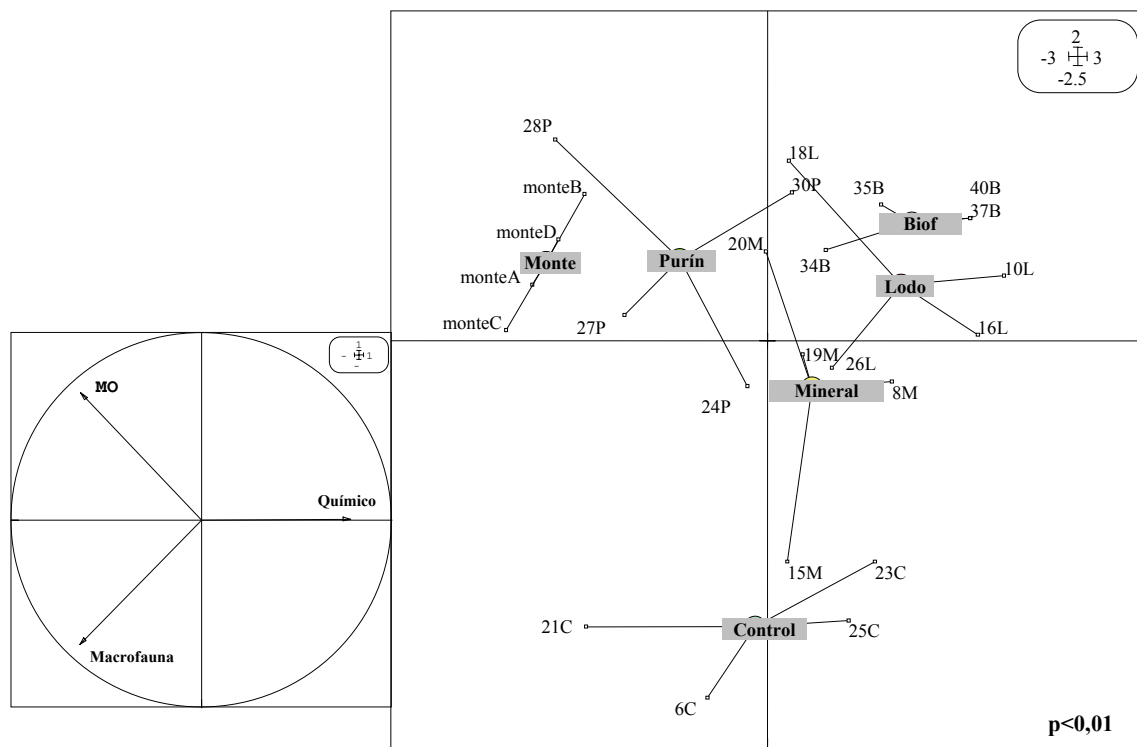


Figura III-2.18. Círculo de correlación y representación de los tratamientos en dos ejes obtenidos con el GISQ.

En el total de las cinco fechas de muestreo, los valores más elevados del subindicador Macrofauna se han observado en las parcelas Control (Figura III-2.19). El Mineral y el Purín también han favorecido la abundancia y diversidad de macrofauna (Figura III-2.19). Contrariamente, el Lodo y el Biof disminuyeron la abundancia y diversidad de macrofauna (Figura III-2.19).

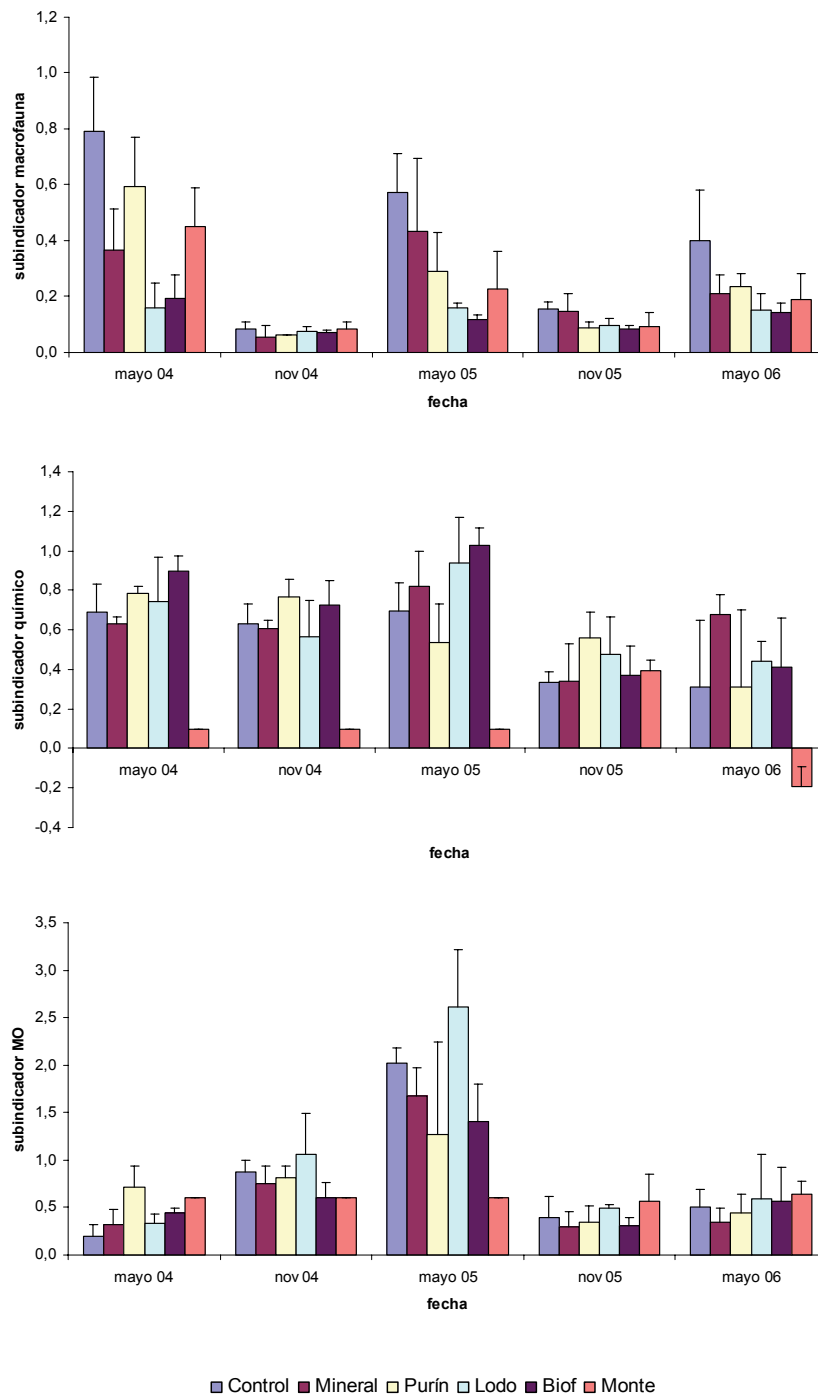


Figura III-2.19. Evolución de los subindicadores macrofauna, químico y MO en cada tratamiento a lo largo de los cinco muestreos. Las barras verticales indican la desviación típica.

La aplicación de residuos orgánicos ha incrementado el valor del subindicador Químico en todas las fechas de muestreo (Figura III-2.19). Sin embargo, hubo una disminución de los valores de este subindicador en las dos últimas fechas, sobre todo en el Monte (Figura III-2.19).

El Lodo y el Biof también han contribuido a valores superiores del subindicador MO (Figura III-2.19). Se ha observado un gran incremento en mayo de 2005. Los valores más bajos de este subindicador se han encontrado en las parcelas Mineral y Monte (Figura III-2.19).

El valor del GISQ ha sido afectado por la época (d) ($F_{GISQ,d} = 27,629$; $p < 0,001$) y por el tratamiento fertilizante (f) ($F_{GISQ,f} = 14,880$; $p < 0,001$). Su valor para cada tratamiento siguió el siguiente orden: Monte > Control > Purín > Mineral > Lodo > Biof (Figura III-2.20). En general, el Monte y el Control han presentado los mayores valores de GISQ y los valores más bajos se han obtenido con los tratamientos con Biof y con Lodo (Figura III-2.20).

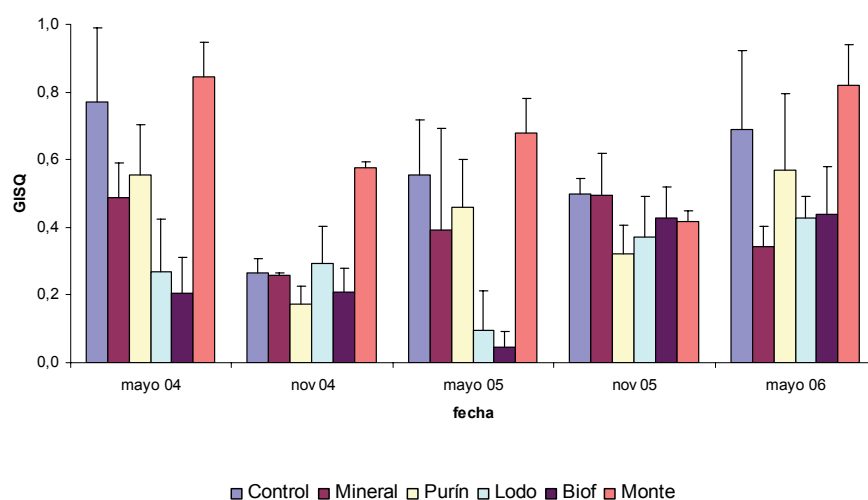


Figura III-2.20. Evolución del GISQ en cada tratamiento a lo largo de todos los muestreos.

Las barras verticales indican la desviación típica.

2.6.2.2. A nivel espacial

Después de crear y aplicar el GISQ en el Ensayo Dirigido, se ha empleado la fórmula obtenida en las Parcelas Monitorizadas, de mayor superficie y en donde no existe un control explícito sobre el plan de fertilización.

Los valores de los subindicadores no han sufrido variaciones severas entre las dos épocas de muestreo (Figura III-2.21).

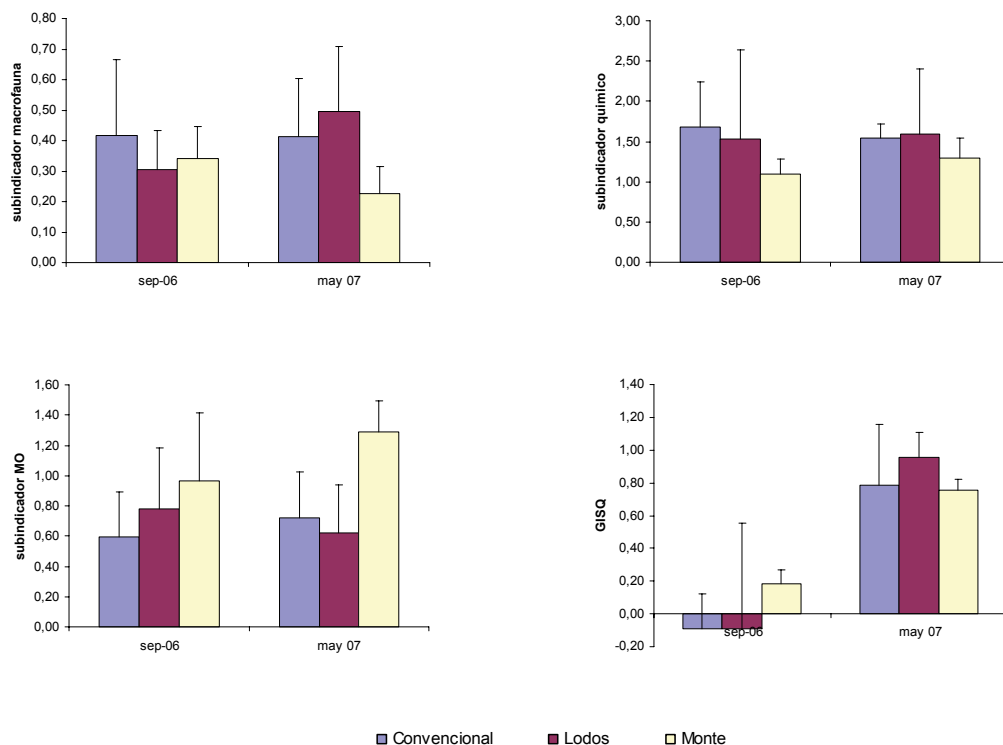


Figura III-2.21. Valores de los subindicadores (Macrofauna, Químico y MO) y del GISQ para los dos muestreos.

Las barras verticales indican la desviación típica.

El subindicador Químico ha tenido valores medios superiores en las parcelas fertilizadas. El subindicador MO ha sido superior en Monte. Las prácticas agrícolas asociadas al mantenimiento de la pradera, que incluyen su fertilización, han contribuido a la mejora de la calidad química del suelo. Esta mejora puede haber estado asociada a la neutralización de la acidez del suelo y, consecuentemente, al incremento de la disponibilidad de nutrientes. Por otro lado, en el suelo de Monte, los elevados niveles de MO han contribuido a aumentar el valor del subindicador correspondiente.

El valor del GISQ ha sido claramente afectado por la época de muestreo (Figura III-2.21). Tal como se había observado para determinados tratamientos del ensayo anterior (Control, Purín y Monte), el GISQ ha tenido valores superiores en primavera que en otoño. Sin embargo, en este caso no ha quedado claro cual ha sido el subindicador responsable para este cambio de valores.

El GISQ en mayo de 2007 ha presentado valores parecidos para las praderas fertilizados y para el Monte. Asimismo, la conversión de monte en pradera no ha modificado la calidad global del suelo.

Por otra parte, en los dos muestreos el valor del GISQ ha sido similar entre las praderas fertilizadas de manera convencional y las praderas fertilizadas con lodos. Así, la aplicación de lodos como fertilizante no ha afectado a la calidad global.

2.6.3. Síntesis de los resultados obtenidos utilizando el GISQ

Aplicando la metodología del GISQ ha sido posible identificar distintos tratamientos en suelos ácidos de pradera sometidos a diferentes tipos de fertilización.

La fórmula creada para esta situación específica se ha podido aplicar tanto para evaluar la calidad global del suelo en un ensayo en donde se han establecido al azar distintos tratamientos fertilizantes (Ensayo Dirigido), como en condiciones de diferente escala espacial (Parcelas Monitorizadas).

El GISQ se ha manifestado como una herramienta útil para evaluar la calidad de un suelo ácido de pradera sometido a diferentes tipos de fertilizantes. Sin embargo, cuando se han utilizado parcelas de una escala superior, las diferencias se han detectado más al nivel de uso del suelo (Monte vs. Pradera) que en función del tipo de fertilización (Convencional vs. Lodos). En este caso hay que tener en cuenta que sólo se han tomado muestras en dos fechas.

Para contribuir a la posible validación de este indicador para estas condiciones específicas, se propone su utilización en parcelas de mayor tamaño (escala de finca o superior), en número más elevado y sometidas a fertilización con residuos orgánicos de diferentes orígenes (compost, vermicompost, lodos de depuradora urbana, etc.).

3. Efecto en los organismos del suelo: comportamiento de fuga de lombrices y colémbolos

En este apartado se presentan los resultados de bioensayos en donde se han utilizado los suelos de las Parcelas Monitorizadas. Se han realizado test con lombrices (*Eisenia fetida*) y colémbolos (*Folsomia candida*) para evaluar si la fertilización de una pradera y la adición de lodos al plan de fertilización provocan un comportamiento de fuga en estos individuos.

3.1. Caracterización de los suelos

En la Tabla III-3.1 se presentan las principales características físico-químicas de los suelos estudiados. Los suelos analizados presentaban un contenido en arena entre 39 % y 69 %, un contenido en limo entre 17 % y 38 % y de arcilla entre 14 % y 23 %, clasificándose en franco-arenosos o franco-arcillo-arenosos. El suelo de la parcela Monte, donde se han observado porcentajes más elevados de arcilla y sobre todo de limo, presentaba una textura franca.

Los suelos de las siete parcelas estudiadas han manifestado diferencias altamente significativas ($p < 0,001$) o muy significativas ($p < 0,01$) para las medias de los parámetros analizados (Tabla III-3.1). Los resultados de los análisis químicos de los suelos han revelado la sensibilidad de algunos parámetros edáficos al uso del suelo. Las parcelas fertilizadas han presentado valores significativamente superiores de pH H₂O, de pH KCl, de fósforo (P) y de calcio (Ca) y de magnesio (Mg) de cambio en comparación con la parcela Monte (Tabla III-3.1). Por su parte, la parcela Monte obtuvo valores significativamente superiores de materia orgánica (MO), de relación carbono/nitrógeno (C/N), de aluminio de cambio (Al) y de saturación en Al, como suele ocurrir en los suelos de esta región (Macías et al., 1982; Mombiela y Mateo, 1984). Estos resultados están de acuerdo con diversos trabajos que señalan que los residuos orgánicos pueden contribuir a paliar los problemas de acidificación, porque además de aportar al suelo MO y nutrientes, mejoran el crecimiento de las plantas a través de la disminución de la toxicidad en Al (Mokolobate y Haynes, 2002a; Materechera y Mkhabela, 2002).

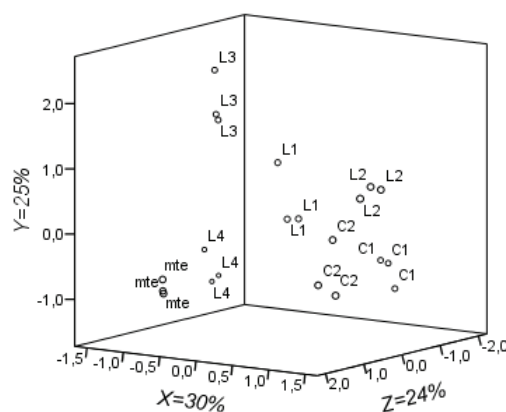
Tabla III-3.1. Características físico-químicas de los suelos de cada parcela (media \pm desviación típica).

Parámetros físico-químicos	Sig.	fertilización convencional		fertilización con lodos				Monte
		C1	C2	L1	L2	L3	L4	
pH H ₂ O	***	6,18 \pm 0,01	g 5,77 \pm 0,03	c 5,73 \pm 0,01	b 5,86 \pm 0,01	d 5,91 \pm 0,01	e 5,95 \pm 0,00	f 5,08 \pm 0,02
pH KCl	***	5,20 \pm 0,01	f 4,66 \pm 0,02	b 4,50 \pm 0,01	b 4,78 \pm 0,01	d 4,76 \pm 0,01	c 4,80 \pm 0,00	e 4,08 \pm 0,01
MO %	***	12,20 \pm 0,66	e 11,25 \pm 0,26	d 10,16 \pm 0,36	c 11,23 \pm 0,17	d 7,95 \pm 0,22	a 9,07 \pm 0,32	b 13,39 \pm 0,17
N %	***	0,56 \pm 0,03	d 0,53 \pm 0,02	c 0,49 \pm 0,02	b 0,57 \pm 0,01	d 0,34 \pm 0,01	a 0,35 \pm 0,02	a 0,51 \pm 0,00
C/N	***	12,52 \pm 0,01	c 12,37 \pm 0,09	b 11,99 \pm 0,01	a 11,51 \pm 0,04	a 13,43 \pm 0,03	d 15,24 \pm 0,13	e 15,24 \pm 0,13
P mg kg ⁻¹	***	22,19 \pm 0,20	d 21,47 \pm 0,52	d 8,55 \pm 0,46	b 23,76 \pm 3,48	d 14,32 \pm 0,46	c 4,68 \pm 1,05	a 4,88 \pm 0,20
Ca ²⁺ cmol _c kg ⁻¹	***	7,01 \pm 0,05	f 3,29 \pm 0,19	d 3,02 \pm 0,25	c 3,59 \pm 0,04	e 2,94 \pm 0,15	c 1,53 \pm 0,08	b 0,68 \pm 0,05
Mg ²⁺ cmol _c kg ⁻¹	***	0,87 \pm 0,00	d 0,74 \pm 0,07	c 0,65 \pm 0,05	b 0,91 \pm 0,04	d 0,86 \pm 0,05	d 0,45 \pm 0,02	a 0,50 \pm 0,04
Na ⁺ cmol _c kg ⁻¹	**	0,29 \pm 0,01	a 0,30 \pm 0,03	ab 0,30 \pm 0,03	ab 0,33 \pm 0,00	b 0,35 \pm 0,02	ab 0,29 \pm 0,02	ab 0,30 \pm 0,01
K ⁺ cmol _c kg ⁻¹	***	0,54 \pm 0,02	abc 0,59 \pm 0,18	abc 0,26 \pm 0,02	a 0,27 \pm 0,00	a 0,35 \pm 0,01	a 0,52 \pm 0,02	c 0,50 \pm 0,04
Al ³⁺ cmol _c kg ⁻¹	***	0,18 \pm 0,00	a 0,93 \pm 0,14	bc 0,72 \pm 0,03	cd 0,70 \pm 0,01	d 0,35 \pm 0,01	b 0,58 \pm 0,01	c 1,65 \pm 0,06
sat. Al %	***	2,06 \pm 0,00	a 15,92 \pm 0,78	cd 14,54 \pm 0,97	c 12,04 \pm 0,02	c 7,13 \pm 0,41	b 17,17 \pm 0,84	d 45,53 \pm 1,32
CICe	***	8,89 \pm 0,07	d 5,85 \pm 0,59	abc 4,95 \pm 0,32	bc 5,80 \pm 0,09	c 4,85 \pm 0,20	b 3,37 \pm 0,13	a 3,62 \pm 0,16
Cr ppm	***	8,43 \pm 0,18	a 13,58 \pm 0,08	b 16,40 \pm 1,10	c 12,53 \pm 0,03	b 22,30 \pm 1,20	d 25,13 \pm 1,13	e 19,30 \pm 0,55
Cu ppm	***	8,45 \pm 0,10	a 11,45 \pm 0,00	ab 14,98 \pm 1,03	d 11,48 \pm 0,08	b 21,28 \pm 0,08	e 13,25 \pm 0,40	c 21,63 \pm 0,27
Pb ppm	***	0,50 \pm 0,50	a 6,25 \pm 0,25	d 2,75 \pm 0,25	a 5,50 \pm 1,00	cd 4,50 \pm 0,00	bc 4,00 \pm 1,00	b 5,00 \pm 0,50
Zn ppm	***	23,81 \pm 0,14	b 30,70 \pm 0,28	d 31,84 \pm 1,00	e 29,00 \pm 0,62	c 40,27 \pm 0,27	g 19,66 \pm 0,66	a 33,09 \pm 0,45
Ni ppm	***	0,00 \pm 0,00	a 2,00 \pm 0,05	b 3,50 \pm 0,40	c 0,78 \pm 0,78	ab 6,80 \pm 0,70	d 6,78 \pm 1,13	d 9,05 \pm 1,15
Σ metales ppm	***	41,18 \pm 0,91	a 63,98 \pm 0,55	c 69,47 \pm 3,77	d 59,27 \pm 2,50	b 95,14 \pm 1,56	f 68,81 \pm 2,06	cd 88,06 \pm 0,93
arena %		68,7	57,6	60,6	57,6	56,8	59,8	38,8
limo %		17,0	22,8	20,8	22,3	21,9	23,0	37,8
arcilla %		14,3	19,6	18,6	20,1	21,3	17,2	23,5
Textura		Franco arenosa	Franco arenosa	Franco arenosa	Franco arcillo arenosa	Franco arcillo arenosa	Franco arenosa	Franca

L1, L2, L3 y L4: parcelas fertilizadas con lodos de láctea desde hace 3 años, 2 años, 1 año y 6 meses, respectivamente. C1 y C2: parcelas fertilizadas de manera convencional (fertilizantes químicos y purin). Mte- parcela Monte. Sig- Significación del test F del ANOVA (ns: no significativo, *: p<0,05, **: p<0,01, ***: p<0,001). Para cada parámetro químico, letras minúsculas diferentes indican la existencia de diferencias significativas entre parcelas para p<0,05 (test DMS o Games-Howell), n=3.

Sat. Al: saturación en aluminio. CICe: capacidad de intercambio catiónico efectiva. □ metales: suma de metales pesados (Cr+Cu+Pb+Zn+Ni).

La separación entre las parcelas fertilizadas y la parcela Monte en función de las características físico-químicas se representa gráficamente en la Figura III-3.1, donde se presentan los resultados del Análisis de Componentes Principales (ACP).



Componente	Autovalores iniciales	% acumulado de la varianza
X	3,328	29,602
Y	2,441	54,940
Z	1,311	78,662

Matriz de los componentes rotados			
Parámetro	X	Y	Z
N (%)	0,878	-0,277	0,205
P (mg kg ⁻¹)	0,845	0,220	-0,254
C/N	-0,836	-0,406	0,231
Cu (ppm)	-0,649	0,387	0,611
Na ⁺ (cmol _c kg ⁻¹)	0,008	0,877	0,061
Zn (ppm)	-0,054	0,730	0,541
K ⁺ (cmol _c kg ⁻¹)	-0,097	-0,689	0,005
pH H ₂ O	0,218	0,154	-0,930
Pb (ppm)	0,014	0,203	0,663

Figura III-3.1. Gráfico de dispersión, varianzas totales explicadas por tres componentes y matriz de componentes rotadas para los parámetros químicos del suelo.

L1, L2, L3 y L4: parcelas fertilizadas con lodos de láctea desde hace 3 años, 2 años, 1 año y 6 meses, respectivamente. C1 y C2: parcelas fertilizadas de manera convencional (fertilizantes químicos y purín). Mte- parcela Monte. n=21.

En el círculo de correlación, el componente X representa un gradiente de nitrógeno (N), de C/N y de P; el componente Y representa un gradiente de concentración de sodio (Na), de potasio (K) y de zinc (Zn); y el componente Z representa un gradiente de pH H₂O y del contenido en plomo (Pb) y cobre (Cu). La parcela fertilizada con lodos hacía seis meses (L4) es la que tiene un suelo con características más próximas a las presentadas por el suelo de la parcela Monte, sobre todo respecto al contenido en P (Figura III-3.1).

Comparando las parcelas fertilizadas entre si, no ha sido posible observar ninguna tendencia clara en función del tipo de fertilización realizada (Tabla III-3.1). En general, los menores valores de MO y de N se han observado en la parcela fertilizada con lodos desde hacía un año (L3); la mayor concentración de P ha ocurrido en las parcelas fertilizadas de manera convencional (C1 y C2) y en las parcela fertilizadas con lodo desde hacía dos años (L2); la

parcela que había llevado lodos desde hacía menos tiempo (L4) ha presentado la saturación en Al más elevada (Tabla III-3.1).

Las diferentes estrategias de fertilización utilizadas no han sido susceptibles de cambiar los límites de concentraciones de metales pesados en el suelo. Los menores valores de metales pesados se han encontrado en la parcela C1, aunque todos los suelos estudiados hayan presentado niveles por debajo de los permitidos por la legislación (Consejo Europeo, 1986). Los niveles de cadmio (Cd) han estado incluso por debajo del límite de detección analítica y por esa razón no son mostrados.

El ACP realizado ha permitido separar/agrupar las parcelas en función de las combinaciones utilizadas en la realización de los test de fuga (Figura III-3.1). Las parcelas que se encontraban geográficamente más próximas (C2 y L2) han presentado una mayor similitud en las características químicas de sus suelos (Figura III-3.1). Las parcelas C1 y L1 divergieron sobre todo en función del componente *X* (N, C/N y P). Las parcelas L3 y L4 se han diferenciado en función del componente *Y* (Na, K y Zn).

3.2. Test de fuga con *Eisenia fetida* y *Folsomia candida*

3.2.1. Uso del suelo: parcelas fertilizadas vs. Monte

No hubo mortalidad en ninguno de los test realizados, lo que se esperaba debido a la ausencia de concentraciones elevadas de metales pesados en los materiales utilizados (Tabla II-2).

Comparando los suelos fertilizados (L y C) con el suelo de la parcela Monte, se ha observado que las lombrices no han tenido un comportamiento de fuga de los suelos fertilizados de manera convencional (C) o en los que se añadieron lodos de industria láctea (L) (Figura III-3.2a). En todas las comparaciones realizadas los resultados estadísticos del test de Fisher han demostrado la existencia de diferencias significativas entre los suelos fertilizados y el suelo de Monte (Figura III-3.2a), lo que indica la preferencia de las lombrices por los suelos fertilizados.

En el test con colémbolos, también se ha observado que éstos no han huido de los suelos fertilizados (Fig. III-3.2c) y que han tenido una clara preferencia por estos suelos en la mayoría de las parcelas estudiadas.

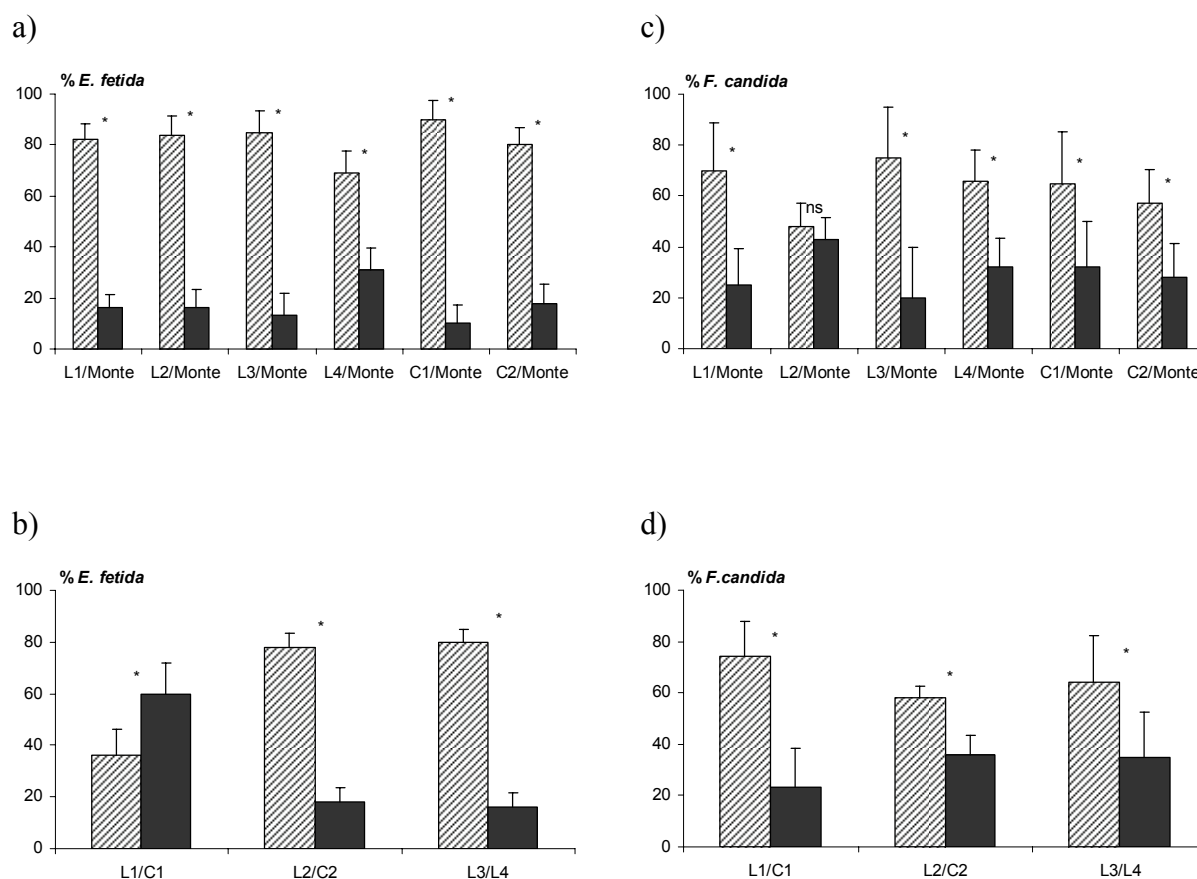


Figura III-3.2. Porcentaje de lombrices (a, b) y de colémbolos (c, d) en los test de fuga (media \pm desviación típica).

a) y c)- suelos fertilizados (L y C) vs. suelo de Monte (Mte); b) y d)- suelos fertilizados: con lodos (L) vs fertilización convencional (C) y con lodos desde hacia 1 año (L3) vs. con lodos desde hacia 6 meses (L4). L1, L2, L3 y L4: parcelas fertilizadas con lodos de láctea desde hace 3 años, 2 años, 1 año y 6 meses, respectivamente. C1 y C2: parcelas fertilizadas de manera convencional (fertilizantes químicos y purín). Significación del test de Fisher: ns: no significativo, *: $p < 0,05$. La línea vertical en cada columna representa la desviación típica de las medias de las réplicas. $n=5$.

La ausencia de contaminación por metales pesados en los suelos fertilizados (Tabla III-3.1) puede explicar el hecho de que ni las lombrices ni los colémbolos hayan evitado los suelos fertilizados, cuando estos se han combinado con el suelo de Monte, usado como referencia (Figura III-3.2a y III-3.2c). Moreira et al. (2008), en la evaluación de la posible pérdida de la función de hábitat después de la aplicación de residuos orgánicos, tampoco han observado un comportamiento de fuga ni de lombrices ni de colémbolos en ninguno de los tratamientos y dosis analizados. En su estudio, las lombrices han tenido incluso una clara preferencia por los suelos fertilizados con lodos y compost en relación al suelo artificial (OCDE) utilizado como referencia. En los test con colémbolos estos autores solamente han observado preferencia por

los compost hechos sólo con hojas de vid o hierba cortada, pero no cuando se han utilizado lodos de depuradora.

En este estudio, las parcelas fertilizadas presentaban características favorables al desarrollo de estos organismos, con un pH más elevado y mayores concentraciones de nutrientes (P y Ca) (Edwards y Bohlen, 1996).

3.2.2. Estrategias de fertilización

3.2.2.1. Fertilización convencional (C) vs Fertilización complementada con lodos (L)

En los test con lombrices, en las combinaciones en que se han comparado los suelos fertilizados con lodos (L1 y L2) en relación a los suelos fertilizados convencionalmente (C1 y C2) se han encontrado resultados diferentes. En la combinación entre L2 y C2, las lombrices no han evitado el suelo fertilizado con lodos, pero en la combinación L1 y C1 las lombrices han evitado el suelo fertilizado con lodos (Figura III-3.2b). En el test con colémbolos, estos no han evitado los suelos fertilizados con lodos en ninguna de las combinaciones estudiadas (L1 y L2) (Figura III-3.2d).

En la interpretación de estos resultados se debe considerar que en la parcela L1 se había aplicado purín solamente dos semanas antes de la toma de muestras de suelo para la realización de los test. El poco tiempo transcurrido entre la aplicación del purín y la toma de muestras del suelo para la realización de los ensayos pueden haber impedido la correcta estabilización del residuo. Domene et al. (2007), en un estudio sobre la evaluación ecotoxicológica de diferentes residuos orgánicos, han puesto en manifiesto la necesidad de estabilizar los residuos antes de aplicarlos en suelos agrícolas para disminuir su toxicidad. Aunque sea considerado el proceso ideal de estabilización, desde el punto de vista práctico, el compostaje de los residuos utilizados en estas parcelas representaría un coste extra para la explotación ganadera y para la empresa que genera los lodos. Otra forma de minimizar el impacto negativo sobre los organismos del suelo que pueden surgir de la aplicación de purines y lodos frescos en suelos agrícolas, podrá ser la elección de la época de aplicación de estos residuos. En este sentido, considerando la climatología de la zona y el ciclo de vida de las lombrices se puede estimar la época en que la aplicación de residuos orgánicos va a contribuir al perfecto desarrollo de estos organismos. En Galicia, considerando un año medio, es en los meses de febrero y marzo donde se asiste a un periodo de infiltración de agua en el suelo

(INM, 2001), por lo que consideramos que estos dos meses son el periodo más favorable para la reproducción de las lombrices y para el crecimiento de los individuos jóvenes (Edwards y Bohlen, 1996). Según Monroy et al. (2006), la actividad máxima de emparejamiento entre las lombrices adultas ocurre en abril. En este sentido, la aplicación de lodos y purines debe ser realizada un mes después de este periodo (en mayo), de forma a que no se vean afectadas las probabilidades de emparejamiento entre las lombrices adultas y consecuentemente el tamaño de la población. Otra posibilidad, para no comprometer la productividad del cultivo en primavera (corte de silo), será realizar la fertilización con estos residuos en invierno, dejando que se estabilicen en el suelo y que ni la reproducción/supervivencia de lombrices ni la productividad del cultivo se vean afectados en la primavera siguiente.

En el caso de los colémbolos, no se ha observado variación del comportamiento en la parcela con lodos L1, pues estos organismos se alimentan de hongos (Fountain y Hopkin, 2005) y probablemente han tenido un incremento en su fuente de alimento inmediatamente después de la aplicación de los purines. El incremento de la actividad microbiana como consecuencia de la aplicación de residuos orgánicos está bien documentada en la literatura (Larkin et al., 2006; Bastida et al., 2008b). Respecto a la abundancia de las comunidades de hongos, hay autores que consideran que esta no sufre cambios después de la aplicación de residuos orgánicos (Pratt, 2008). Sin embargo, Cwalina-Ambroziak y Bowszys (2009) han observado una influencia positiva de los fertilizantes orgánicos (estiércol, sedimentos de depuración y compost) en la estructura de la comunidad fúngica.

El hecho de que las lombrices no hayan evitado los suelos de la parcela L2 puede tener que ver con el hecho que estas parcelas, L2 y C2, son las que presentan una mayor proximidad geográfica y consecuentemente sus suelos presentan una mayor similitud a nivel de sus características químicas (Figura III-3.1). En este caso ha habido una preferencia de las lombrices por los suelos fertilizados con lodos. En el caso de las parcelas L1 y C1 las diferencias en las características químicas de los suelos pueden también haber influenciado los resultados. Natal-da-Luz et al. (2008), en un estudio sobre la influencia de las propiedades del suelo en los test de fuga, han concluido que los colémbolos son más indicados para utilizar en estos test cuando se comparan suelos naturales con diferentes propiedades edáficas, pues son menos sensibles que las lombrices a algunos parámetros del suelo, como la MO y la textura. En este caso la textura era la misma y el porcentaje de MO, aunque superior en C1, se encontraba muy elevado en las dos parcelas, por lo que las lombrices pueden haber presentado

mayor sensibilidad a otros parámetros como el pH H₂O, pH KCl, P, Ca, Mg, y Al. Es conocido el nivel preferente de pH y el efecto positivo del Ca en las lombrices (Edwards y Bohlen, 1996). No obstante, en relación a la influencia de los demás parámetros existen pocos trabajos. Algunos autores han descrito efectos tóxicos del Al para las lombrices (Philips y Bolger, 1998; van Gestel, 2001).

En general se puede decir que la adición de lodos de depuradora de una industria láctea al plan de fertilización de una pradera no ha presentado riesgo para los organismos del suelo. La inocuidad de los lodos de otras industrias agroalimentarias para los organismos del suelo ha sido evidenciada por otros autores a través del mismo tipo de test (Natal-da-Luz et al., 2009).

3.2.2.2. Tiempo de maduración del lodo (L3 vs L4)

Tanto las lombrices como los colémbolos no han evitado los suelos en donde los lodos habían sido aplicados hacía más tiempo (L3), cuando este ha sido comparado con el suelo donde los lodos se habían aplicado con posterioridad (L4) (Figura III-3.2b y III-3.2d). La aplicación de lodos no ha presentado efectos tóxicos a largo-plazo ni para lombrices ni para colémbolos. En esta situación también se puede considerar una influencia importante de las características químicas de los suelos, pues los suelos de la parcela L4 presentaban contenidos más bajos de P, Ca y Mg y una saturación en Al más elevada.

3.3. Síntesis de los resultados obtenidos en los test de fuga

Con este trabajo se ha intentado contribuir a la caracterización ecotoxicológica de los suelos después de procesos de fertilización y sobre la utilización de lodos de depuradora de industria láctea como fertilizante en suelos agrícolas con características ácidas. Se ha demostrado, a través del test de fuga, que las praderas fertilizadas tanto de manera convencional (con purín y fertilizante químico) como con complemento de lodos, teniendo sus niveles de metales por debajo de los límites propuestos por la legislación vigente, no han presentado pérdida de función de hábitat para lombrices y colémbolos.

También se ha constatado que en el manejo y gestión de residuos orgánicos es fundamental considerar la época de su aplicación en el suelo y las características climáticas de la zona, para

minimizar los impactos negativos que la aplicación de residuos no estabilizados pueda causar en los organismos del suelo.

Se recomienda incluir la realización de test de fuga en programas de evaluación del riesgo de la aplicación de residuos orgánicos en los suelos. Siempre que sea observada la fuga de los suelos fertilizados con los residuos estudiados, estos ensayos deberán ser complementados con test ecotoxicológicos con mayor tiempo de exposición y que evalúen los efectos crónicos de esta práctica sobre los organismos (como los test de reproducción con lombrices y colémbolos y test con plantas, y también test acuáticos que permitan evaluar la función de retención del suelo, verificando si hay posibilidad de contaminación de acuíferos).

4. Efectos en la mortalidad, variación del peso corporal y bioacumulación en *Eisenia fetida*

En este bioensayo se han utilizado dosis crecientes de cada uno de los residuos orgánicos, para evaluar el efecto de su aplicación al suelo en la mortalidad, en la variación de peso corporal y en la acumulación de nutrientes y de metales pesados en lombrices (*Eisenia fetida*).

4.1. Tasa de mortalidad de *Eisenia fetida*

En la Figura III-4.1 está representada la tasa de mortalidad de las lombrices en cada tratamiento. Dos semanas después del comienzo del experimento, se ha verificado mortalidad en los recipientes Control, que a las tres semanas se ha incrementado hasta el 75 %. Este nivel anormal de mortalidad en el suelo Control ha sido un imprevisto, pues el suelo era rico en materia orgánica (MO) (12 %) y cumplía con los límites de metales pesados propuestos por la legislación (Tablas II-2 y II-4).

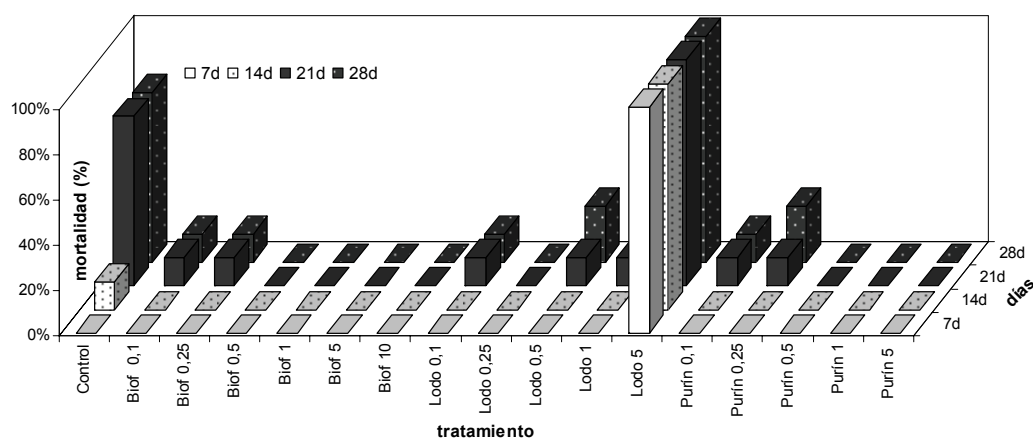


Figura III-4.1. Mortalidad de lombrices (%) acumulada en los diferentes tratamientos y diferentes dosis a lo largo del experimento.

Para el Biof y Purín, se ha observado mortalidad en las dosis más bajas (B₀₁, B₀₂₅, P₀₁ y P₀₂₅) después de tres semanas. Sin embargo, ninguna lombriz ha muerto cuando se han aplicado dosis más elevadas de estos residuos. Por lo tanto, es posible que la mortalidad

observada no se haya debido a la aplicación de los residuos orgánicos, sino por otras causas, relacionadas con las características del suelo Control.

Para el Lodo, después de tres semanas de exposición, se ha observado un 13 % de mortalidad para L₀₁, L₀₅ y L₁. En L₅ todas las lombrices habían muerto después de una semana de incubación, siendo el registro de mortalidad más elevado durante todo el experimento. La explicación para dicho porcentaje de mortalidad puede estar relacionada con las características físicas y químicas de esta mezcla suelo-residuo. Además, este suceso puede ser debido a que después de la incubación, el lodo se haya tornado anaeróbico y el lodo digerido anaeróbicamente puede haber producido alcohol, amonio, ácido acético y gas metano, letales para las lombrices (Frederickson y Knight, 1988). Los residuos orgánicos digeridos aeróbicamente son esenciales para el crecimiento de las lombrices (Neuhauser et al., 1988). Domene et al. (2008), utilizando la sensibilidad de las especies de una batería de test para la evaluación del riesgo ecológico de la fertilización con residuos orgánicos, han indicado la necesidad de estabilizar los residuos antes de reutilizarlos en los suelos para evitar impactos a corto-plazo en las comunidades del suelo. En el presente estudio, exceptuando el tratamiento L₅, se puede decir que la aplicación de los lodos de industria láctea tratados biológicamente y el purín fresco no han causado efectos negativos en la supervivencia de las lombrices.

La mortalidad de lombrices no se ha revelado como un parámetro especialmente sensible para evaluar la toxicidad de los tres residuos orgánicos estudiados, pues no ha sido afectada por la dosis utilizada. A continuación se analiza la sensibilidad de otros parámetros subletales.

4.2. Variación del peso corporal de *Eisenia fetida*

La variación del peso corporal a lo largo del tiempo es una estimación del crecimiento. El crecimiento es una característica importante de los organismos, de fácil medición, que integra y refleja todos los efectos subletales que pueden estar amenazando el organismo, y tiene un impacto global en el éxito de las poblaciones naturales (Connel et al., 1999). Diversos estudios con lombrices han demostrado que el crecimiento de los individuos es sensible a la aplicación de pesticidas (Capowiez et al., 2005; Olvera-Velona et al., 2008) y de lixiviados de conservantes de la madera (Léduc et al., 2008).

No obstante, pocos trabajos han evaluado la sensibilidad del crecimiento en la aplicación de residuos orgánicos en los suelos. Rosa et al. (2007) han medido este parámetro para evaluar el efecto a corto-plazo de lodos textiles frescos y estabilizados antes de su aplicación al suelo. La ausencia de toxicidad medida a través de otros parámetros y el efecto estimulante observado en el crecimiento de las lombrices fueron buenos indicadores del potencial fertilizante de este residuo orgánico, que ha sido propuesto por los autores citados para la recuperación de suelos forestales. También Price y Veroney (2007) han registrado, en un ensayo de campo, incrementos en la biomasa de lombrices como resultado de la aplicación de biosólidos de pasta de papel.

En el presente estudio, la variación de peso corporal (p) ha estado afectada significativamente por la dosis aplicada en todos los residuos orgánicos (c) ($F_{p,c[\text{Biof}]}=63,361$; $F_{p,c[\text{lodo}]}=34,033$; $F_{p,c[\text{purín}]}=62,283$; $p<0,001$). La aplicación de residuos orgánicos en los suelos, al ser una fuente adicional de alimento, beneficia el crecimiento de las lombrices (Edwards y Bohlen, 1996). Así, era de esperar este incremento en el peso corporal cuando se han aplicado dosis superiores de residuo.

Sin embargo, el efecto de la fecha (d) en la variación del peso corporal (p) solamente se ha notado en los tratamientos con Biof ($F_{p,d(\text{Biof})}=2,845$; $p=0,039$). Para el Lodo y para el Purín, la fecha no ha tenido efecto en la variación del peso corporal ($F_{p,d(\text{lodo})}=0,091$; $F_{p,d(\text{purín})}=1,166$; $p>0,05$). El Biof es un material deshidratado por lo que puede no haber quedado homogeneizado inmediatamente en el suelo después de su incorporación.

La Figura III-4.2 representa la evolución de la variación de peso corporal durante el tiempo de exposición para cada residuo. Las lombrices en los recipientes Control presentaron las pérdidas de peso más elevadas durante la exposición. Para las parcelas con residuos orgánicos, las concentraciones más bajas (0,1 %, 0,25 % y 0,5 %) tuvieron un efecto similar. Se ha observado una variación positiva del peso corporal en las dosis superiores, sobre todo después de la primera semana de exposición.

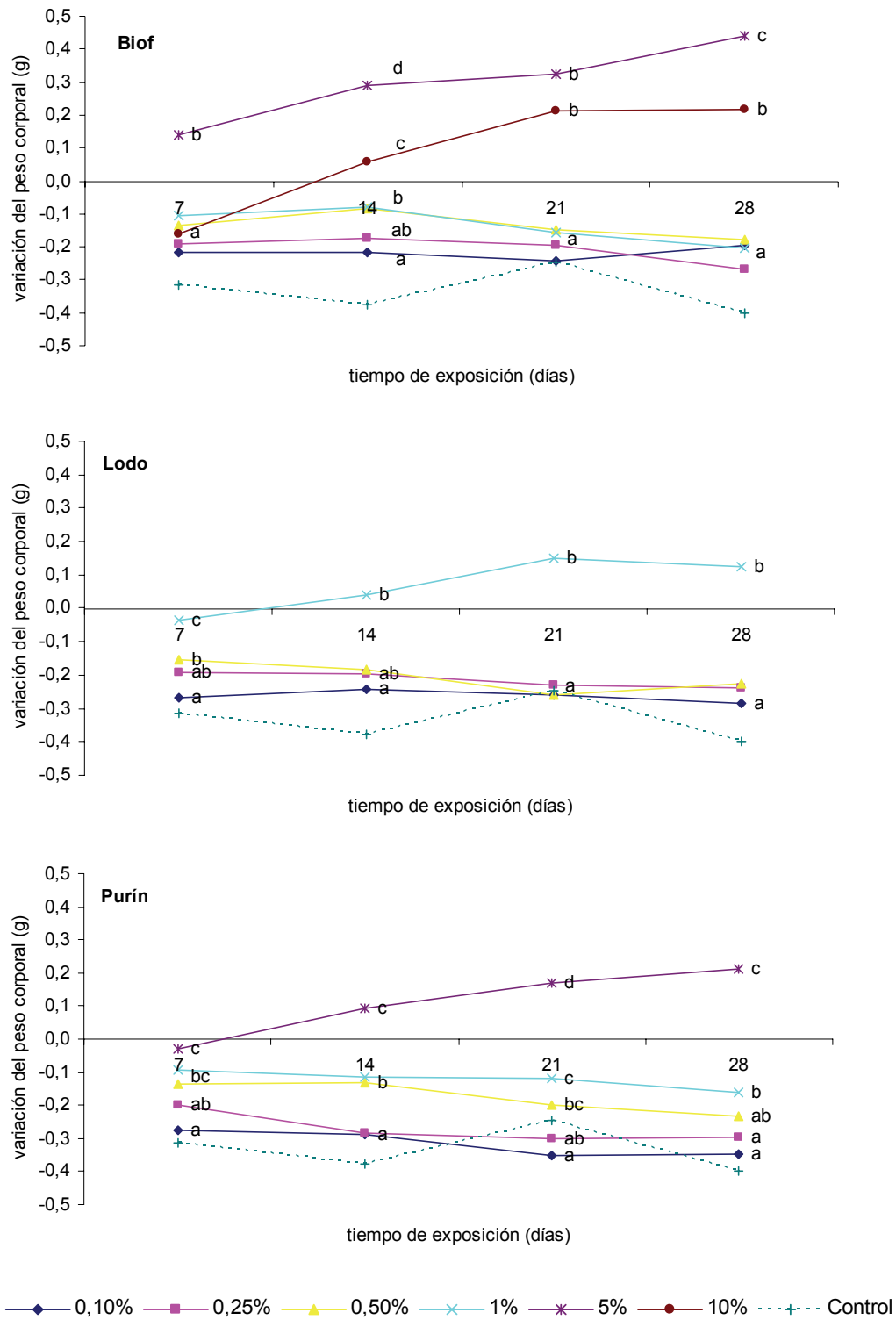


Figura III-4.2. Evolución de la variación del peso corporal de las lombrices durante el tiempo de exposición.

El valor de referencia para determinar la variación del peso corporal es siempre el valor en $t=0$. Para cada tiempo de exposición, letras diferentes indican la existencia de diferencias significativas entre las dosis de aplicación del residuo utilizando el test DMS para comparación de medias ($p < 0,05$). $n=8$.

Los tres residuos orgánicos estudiados han afectado positivamente la variación del peso corporal de las lombrices, y esto ha estado relacionado con la dosis aplicada (Tabla III-4.1).

Tabla III-4.1. Modelo de regresión utilizando la dosis de aplicación de residuos orgánicos como “predictor” de la variación de peso corporal de *Eisenia fetida* (variable dependiente) después de un periodo de exposición de 28 días.

Residuo orgánico	R ²	Ecuación de regresión
Biof	0,498***	y= 0,057 x dosis – 0,189
Lodo	0,524***	y= 0,453 x dosis – 0,363
Purín	0,768***	y= 0,106 x dosis – 0,308

R²: coeficiente de determinación; ***: p<0,001. n=8.

Según el modelo de regresión, 50 a 77 % de la variabilidad de la variación del peso corporal de las lombrices ha sido explicada por la dosis aplicada de cada residuo orgánico (Tabla III-4.1). Sin embargo, la variación del peso corporal en función de la dosis aplicada se ha hecho notar más rápidamente cuando se ha aplicado Lodo (0,453 g) que cuando se ha aplicado Biof (0,057 g). Por otro lado, cuando la dosis es cero, el crecimiento resultante es negativo para todos los residuos. En el Lodo es posible observar un crecimiento positivo para una dosis superior a 1,2 %, mientras que para el Biof hace falta 3,3 % y para el Purín es suficiente 0,34 %, Así, se puede decir que este parámetro ha sido sensible a los tres residuos orgánicos utilizados.

4.3. Caracterización química de las mezclas suelo-residuo y bioacumulación de nutrientes en *Eisenia fetida*

En la Tabla III-4.2 se presentan las características químicas de las mezclas suelo-residuo después de veintiocho días de exposición de las lombrices. Para dosis crecientes de residuos orgánicos, se ha observado un incremento proporcional de todos los parámetros químicos de las mezclas suelo-residuo analizadas, excepto para la saturación en aluminio (Al).

El carbono (C) ha variado poco entre tratamientos (P₀₂₅: 7,52; B₁₀: 10,40) y los valores más elevados se han encontrado en la parcela con la dosis más elevada para cada tratamiento (P₅, L₅, B₁₀). Lo mismo ha ocurrido con el nitrógeno (N) (P₀₁ y P₀₂₅: 0,57; L₅:1,04). El fósforo (P) ha sufrido un gran incremento (P₀₂₅: 6,26; L₅: 95,87) y los

Tabla III-4.2. Características químicas de las mezclas suelo-residuo en el final del experimento (28 días) (media \pm desviación típica).

Tratamiento	pH H ₂ O	C %	N %	P mg kg ⁻¹	K ⁺ cmol _c kg ⁻¹	Na ⁺ cmol _c kg ⁻¹	Ca ²⁺ cmol _c kg ⁻¹	Mg ²⁺ cmol _c kg ⁻¹	saturación en Al %
<u>Control</u>	5,33 \pm 0,07	8,26 \pm 0,17	0,63 \pm 0,02	6,94 \pm 0,45	0,19 \pm 0,09	0,24 \pm 0,03	0,35 \pm 0,13	0,09 \pm 0,01	74,19 \pm 4,79
<u>Biof</u>									
0,10%	5,35 \pm 0,03	7,70 \pm 0,28	0,59 \pm 0,02	6,62 \pm 0,34	0,23 \pm 0,02	0,22 \pm 0,01	0,34 \pm 0,01	0,11 \pm 0,00	71,07 \pm 0,88
0,25%	5,47 \pm 0,06*	7,95 \pm 0,36	0,61 \pm 0,03	8,39 \pm 0,53	0,38 \pm 0,03	0,25 \pm 0,01	0,51 \pm 0,03*	0,17 \pm 0,01	61,04 \pm 1,43*
0,50%	5,63 \pm 0,03*	7,90 \pm 0,16	0,61 \pm 0,01	11,83 \pm 2,40*	0,61 \pm 0,05*	0,25 \pm 0,02	0,79 \pm 0,06*	0,25 \pm 0,02*	47,89 \pm 1,18*
1%	5,9 \pm 0,08*	8,33 \pm 0,36	0,65 \pm 0,03	13,99 \pm 1,00*	1,31 \pm 0,14*	0,31 \pm 0,01*	1,53 \pm 0,19*	0,50 \pm 0,08*	24,67 \pm 2,23*
5%	6,75 \pm 0,08*	8,88 \pm 0,62	0,77 \pm 0,05*	28,17 \pm 3,02*	5,04 \pm 1,72*	0,58 \pm 0,09*	4,37 \pm 0,28*	1,46 \pm 0,32*	0,60 \pm 0,11*
10%	7,2 \pm 0,05*	10,40 \pm 0,46*	0,99 \pm 0,03*	44,02 \pm 1,37*	8,60 \pm 0,18*	1,01 \pm 0,02*	6,17 \pm 0,14*	3,12 \pm 0,10*	0,19 \pm 0,12*
<u>Lodo</u>									
0,10%	5,22 \pm 0,06	7,71 \pm 0,41	0,59 \pm 0,03	6,58 \pm 0,20	0,07 \pm 0,03*	0,22 \pm 0,02	0,42 \pm 0,04	0,08 \pm 0,01	71,52 \pm 2,65
0,25%	5,42 \pm 0,02	7,86 \pm 0,36	0,62 \pm 0,03	7,59 \pm 1,03	0,09 \pm 0,01*	0,24 \pm 0,01	0,56 \pm 0,02*	0,10 \pm 0,00	63,22 \pm 1,63*
0,50%	5,73 \pm 0,02*	7,75 \pm 0,27	0,62 \pm 0,02	13,22 \pm 1,05*	0,24 \pm 0,01	0,32 \pm 0,00*	0,87 \pm 0,02*	0,15 \pm 0,00	44,59 \pm 0,60*
1%	6,18 \pm 0,11*	8,06 \pm 0,68	0,68 \pm 0,06	24,82 \pm 1,17*	0,48 \pm 0,03*	0,46 \pm 0,02*	1,50 \pm 0,02*	0,26 \pm 0,01	19,23 \pm 0,78*
5%	7,46 \pm 0,03*	9,50 \pm 0,31*	1,04 \pm 0,03*	95,87 \pm 4,11*	3,15 \pm 0,11*	1,73 \pm 0,05*	2,27 \pm 0,09*	0,89 \pm 0,02	0,57 \pm 0,08*
<u>Purín</u>									
0,10%	5,16 \pm 0,07*	7,66 \pm 0,57*	0,57 \pm 0,04*	7,19 \pm 0,79	0,09 \pm 0,04*	0,19 \pm 0,01*	0,28 \pm 0,03	0,07 \pm 0,01	76,78 \pm 2,20
0,25%	5,2 \pm 0,05*	7,52 \pm 0,24*	0,57 \pm 0,02*	6,26 \pm 0,68	0,29 \pm 0,01	0,21 \pm 0,01*	0,40 \pm 0,02	0,11 \pm 0,01	65,10 \pm 1,44*
0,50%	5,31 \pm 0,02	7,70 \pm 0,19	0,61 \pm 0,02	8,55 \pm 0,56*	0,61 \pm 0,03*	0,25 \pm 0,01	0,69 \pm 0,06*	0,19 \pm 0,01*	46,06 \pm 2,02*
1%	5,42 \pm 0,03*	7,97 \pm 0,33	0,61 \pm 0,02	8,57 \pm 0,84*	1,33 \pm 0,07*	0,34 \pm 0,01*	1,22 \pm 0,07*	0,34 \pm 0,02*	25,24 \pm 0,52*
5%	5,71 \pm 0,02*	9,14 \pm 0,35*	0,69 \pm 0,02*	21,57 \pm 1,32*	7,56 \pm 0,12*	0,97 \pm 0,02*	3,25 \pm 0,12*	1,39 \pm 0,04*	1,70 \pm 0,15*

n=4. *: p<0,05 (diferencias estadísticamente significativas comparando con el Control, test de Dunnett).

valores más elevados se han encontrado en las parcelas L₅, debido posiblemente a la riqueza del lodo en P (Tabla II-4). En relación a los cationes, las mayores diferencias se han observado para el potasio (K) (L_{0,1}: 0,07; B₁₀: 8,60) y para el calcio (Ca) (P₀₁: 0,28; B₁₀: 6,17), cuyos valores superiores han ocurrido en el B₁₀. El pH ha variado poco entre los diferentes tratamientos (P₀₁: 5,16; B₁: 5,90), excepto para las concentraciones más elevadas de Lodo (L₁: 6,18 y L₅: 7,46) y Biof (B₅: 6,75 y B₁₀: 7,20), donde los pH han sobrepasado el valor seis. En el L₅ el pH de la mezcla suelo-residuo ha alcanzado los 7,46, cuando 7 es el límite superior de pH para *E. fetida* (Edwards y Bohlen, 1996). El pH elevado, juntamente con las condiciones anaeróbicas en los recipientes, puede haber explicado la mortalidad ocurrida en este tratamiento.

En los recipientes Control, aunque el pH no haya sido demasiado bajo (pH H₂O 5,33), el suelo ha presentado una saturación en Al de cerca del 75 %. Esto puede explicar los bajos niveles de nutrientes en el suelo, que consecuentemente no han favorecido el crecimiento de las lombrices. La saturación en Al ha sufrido variaciones importantes (B₁₀: 0,19 %; P₀₁: 76,78 %), y los valores superiores se han observado en el suelo Control y en las mezclas que han recibido las concentraciones más bajas de residuos (Tabla III-4.2). Pocos trabajos han investigado el efecto de la toxicidad en Al en los organismos del suelo. Philips y Bolger (1998) han evaluado los efectos subletales del Al, a diferentes niveles de pH, en lombrices *E. fetida* creciendo en un suelo artificial y concluyeron que elevados niveles de Al inhiben la producción de capullos (*cocoon*) entre pH 4 y pH 7. Van Gestel y Hoogerwerf (2001) han observado que la toxicidad en Al para *Eisenia andrei* se ha incrementado en un suelo artificial con pH inferior a 3,4. La elevada mortalidad en el suelo Control y la mortalidad más baja en los recipientes que han recibido los residuos orgánicos, que aportan MO, puede indicar una neutralización del Al por la MO. Algunos investigadores han demostrado que la adición de residuos orgánicos en suelos ácidos puede paliar la toxicidad en Al a través de un incremento del pH del suelo, liberando material húmico soluble, liberando ácidos orgánicos alifáticos e incrementando el contenido de MO (Haynes y Mokolobate, 2001). Este efecto ha sido discutido también en la sección 1 del capítulo de Resultados y Discusión.

En la Tabla III-4.3 se representan las correlaciones entre la saturación en Al y otros parámetros del suelo. Para todos los residuos orgánicos, la saturación en Al ha estado correlacionada significativamente con todas las otras variables del suelo, y ha sido superior a 90 % con el pH H₂O y el Ca.

Tabla III-4.3. Correlación entre la saturación en Al y otros parámetros del suelo.

parámetro	Biof		Lodo		Purín	
	R	Sign	R	Sign	R	Sign
pH H ₂ O	-0,945	0,000	-0,943	0,000	-0,902	0,000
C (%)	-0,727	0,000	-0,609	0,002	-0,614	0,000
N (%)	-0,790	0,000	-0,802	0,000	-0,668	0,000
C/N	0,869	0,000	0,911	0,000	0,238	0,162
P (mg kg ⁻¹)	-0,881	0,000	-0,847	0,000	-0,818	0,000
K ⁺ (cmol _c Kg ⁻¹)	-0,848	0,000	-0,802	0,000	-0,847	0,000
Na ⁺ (cmol _c Kg ⁻¹)	-0,809	0,000	-0,823	0,000	-0,854	0,000
Ca ²⁺ (cmol _c Kg ⁻¹)	-0,907	0,000	-0,985	0,000	-0,916	0,000
Mg ²⁺ (cmol _c Kg ⁻¹)	-0,824	0,000	-0,858	0,000	-0,867	0,000
Al ³⁺ (cmol _c Kg ⁻¹)	0,986	0,000	0,978	0,000	0,977	0,000

R: correlación de Pearson. Sign: significancia de la correlación. n(Biof)=24, n(Lodo)=20, n(Purín)=20.

Además, la concentración de Ca en el tejido de las lombrices ha estado correlacionado positivamente con la concentración de Ca en las mezclas Suelo-Biof y Suelo-Purín ($r=0,741$; $p<0,01$) (Tabla III-4.4). El Mg en la mezcla suelo-residuo se ha correlacionado positivamente con el Mg en el tejido de las lombrices para todos los residuos (Tabla III-4.4).

Tabla III-4.4. Correlaciones entre las concentraciones en el tejido de *Eisenia fetida* y las concentraciones en la mezcla suelo-residuo en el final del experimento.

Parámetro	Biof		Lodo		Purín	
	R	Sign	R	Sign	R	Sign
P	-0,402	0,154	0,320	0,368	0,333	0,289
Ca	0,741	0,002	0,317	0,373	0,741	0,006
Mg	0,560	0,037	0,724	0,018	0,809	0,001
Na	0,510	0,063	0,646	0,044	0,548	0,065
K	-0,709	0,005	0,451	0,191	0,165	0,607
Al	-0,578	0,030	-0,587	0,074	-0,526	0,079
Cu	0,046	0,876	-0,315	0,375	-0,677	0,016
Cr	-0,526	0,053	-0,674	0,032	-0,663	0,019
Cd	0,349	0,222	0,265	0,459	0,000	1,000
Pb	0,653	0,011	0,262	0,464	0,352	0,262
Zn	-0,212	0,467	-0,022	0,952	0,105	0,746
Ni	-0,489	0,076	-0,612	0,060	0,118	0,715

R: correlación de Pearson. Sign: significancia de la correlación. n(Biof)=12, n(Lodo)=8, n(Purín)=10.

Para evaluar la sensibilidad de la bioacumulación por las lombrices a los residuos orgánicos, se hicieron regresiones entre las concentraciones de nutrientes en los tejidos y las dosis de aplicación de los residuos (Tabla III-4.5). Los resultados han variado en función del residuo orgánico usado. Para el Biof, la bioacumulación de Ca, K y Al ha dependido de la dosis. Para

el Lodo, solamente la bioacumulación de Na ha dependido de la dosis de aplicación. Finalmente para el Purín, la bioacumulación de Ca y Mg ha sido dependiente de la dosis de aplicación.

Tabla III-4.5. Modelos de regresión utilizando la dosis de aplicación del residuo orgánico como “predictor” de la acumulación en el tejido de *Eisenia fetida* (variable dependiente) en el final del experimento.

Parámetros	R ²	p	Ecuación de regresión
<u>Biof</u>			
P	0,272	0,082	y= -55,8 dosis + 6746,5
Ca	0,517	0,008	y= 57,7 dosis + 2779,0
Mg	0,277	0,079	y= 6,3 dosis + 611,6
Na	0,245	0,101	y= 110,3 dosis + 3529,2
K	0,440	0,019	y= -93,5 dosis + 6616,9
Al	0,596	0,003	y= 73,9 dosis + 507,3
<u>Lodo</u>			
P	0,070	0,525	y= 104,1 dosis + 6645,7
Ca	0,002	0,919	y= -12,0 dosis + 2628,4
Mg	0,474	0,059	y= 70,1 dosis + 549,8
Na	0,778	0,004	y= 948,8 dosis + 3184,9
K	0,223	0,238	y= 250,1 dosis + 6533,5
Al	0,478	0,057	y= 633,1 dosis + 414,6
<u>Purín</u>			
P	0,159	0,254	y= 104,1 dosis + 6645,7
Ca	0,481	0,026	y= -12,0 dosis + 2628,4
Mg	0,606	0,008	y= 70,1 dosis + 549,8
Na	0,323	0,086	y= 948,9 dosis + 3184,9
K	0,068	0,466	y= 250,1 dosis + 6533,5
Al	0,131	0,303	y= 633,1 dosis + 414,6

R²: coeficiente de determinación, p: significación. n(Biof)=32, n(Lodo)=28, n(Purín)=30.

4.4. Metales pesados en las mezclas suelo-residuo y su bioacumulación en *Eisenia fetida*

La Tabla III-4.6 presenta las concentraciones de metales pesados en las mezclas suelo-residuo y también en el tejido de las lombrices y los respectivos factores de bioconcentración (BF).

Tabla III-4.6. Concentraciones de metales pesados en las mezclas suelo-residuo y en el tejido de *Eisenia fetida* y factores de bioconcentración.

Tratamientos		Metales pesados (mg kg ⁻¹)					
		Cu	Cr	Cd	Pb	Zn	Ni
Control	tejido	4,29 ± 0,18	BDL	1,62 ± 0,01	1,72 ± 0,47	108,59 ± 0,94	6,85 ± 0,07
	suelo	15,05 ± 2,79	20,21 ± 2,86	BDL	24,00 ± 2,74	29,80 ± 2,32	16,46 ± 0,92
	BF	<u>0,29</u>	-	-	<u>0,07</u>	<u>3,64</u>	<u>0,42</u>
Biof 0,1%	tejido	6,27 ± 0,11*	0,08 ± 0,28	1,86 ± 0,66	2,15 ± 0,58	89,05 ± 2,03*	3,50 ± 2,60
	suelo	16,88 ± 1,34	22,06 ± 5,30	BDL	25,03 ± 2,56	30,60 ± 2,82	22,25 ± 10,49
	BF	<u>0,37</u>	<u>0,00</u>	-	<u>0,09</u>	<u>2,91</u>	<u>0,16</u>
Biof 0,25%	tejido	5,92 ± 0,78	0,10 ± 0,02	1,65 ± 0,04	1,02 ± 1,04	97,78 ± 0,48*	2,19 ± 0,23*
	suelo	15,69 ± 0,27	16,94 ± 1,34	BDL	22,50 ± 2,55	33,53 ± 4,16	20,43 ± 1,62
	BF	<u>0,38</u>	<u>0,01</u>	-	<u>0,05</u>	<u>2,92</u>	<u>0,11</u>
Biof 0,5%	tejido	6,16 ± 0,57	0,55 ± 0,53	1,72 ± 0,04	1,08 ± 0,14	92,33 ± 7,71	2,09 ± 0,27*
	suelo	15,56 ± 0,66	18,76 ± 2,23	BDL	21,30 ± 1,28	32,53 ± 1,17	19,93 ± 1,75
	BF	<u>0,40</u>	<u>0,03</u>	-	<u>0,05</u>	<u>2,84</u>	<u>0,10</u>
Biof 1%	tejido	5,91 ± 0,38	0,63 ± 0,64	1,68 ± 0,67	1,73 ± 0,22	94,03 ± 5,64	2,35 ± 0,17*
	suelo	15,74 ± 0,62	15,95 ± 0,61	BDL	21,50 ± 2,12	33,90 ± 2,06	19,05 ± 0,51
	BF	<u>0,38</u>	<u>0,04</u>	-	<u>0,08</u>	<u>2,77</u>	<u>0,12</u>
Biof 5%	tejido	6,19 ± 0,53	0,48 ± 0,05*	1,03 ± 0,40	0,84 ± 0,28	83,00 ± 12,59	1,27 ± 1,04
	suelo	17,75 ± 0,67	11,98 ± 1,93*	BDL	19,38 ± 0,95*	44,68 ± 3,06*	19,16 ± 1,05
	BF	<u>0,35</u>	<u>0,04</u>	-	<u>0,04</u>	<u>1,86</u>	<u>0,07</u>
Biof 10%	tejido	5,96 ± 0,11*	1,58 ± 0,71	1,02 ± 0,02*	0,83 ± 0,21	94,90 ± 10,51	1,85 ± 0,20*
	suelo	22,43 ± 3,27*	13,38 ± 2,60*	BDL	19,38 ± 2,10*	69,44 ± 14,85*	18,56 ± 0,15
	BF	<u>0,27</u>	<u>0,12</u>	-	<u>0,04</u>	<u>1,37</u>	<u>0,10</u>
Lodo 0,1%	tejido	4,79 ± 0,16	0,03 ± 0,04	1,39 ± 0,34	0,55 ± 0,48	77,43 ± 3,76*	1,20 ± 0,94
	suelo	14,89 ± 0,39	14,20 ± 0,58*	BDL	18,63 ± 1,49*	28,95 ± 1,22	18,15 ± 0,94*
	BF	<u>0,32</u>	<u>0,00</u>	-	<u>0,03</u>	<u>2,67</u>	<u>0,07</u>
Lodo 0,25%	tejido	8,22 ± 2,47	0,54 ± 0,37	1,92 ± 0,11	1,30 ± 1,84	102,95 ± 28,89	3,13 ± 2,59
	suelo	15,08 ± 0,46	12,49 ± 2,06*	BDL	18,88 ± 1,55*	28,36 ± 1,37	18,48 ± 0,65*
	BF	<u>0,55</u>	<u>0,04</u>	-	<u>0,07</u>	<u>3,63</u>	<u>0,17</u>
Lodo 0,5%	tejido	5,03 ± 0,02	0,00 ± 0,00	1,40 ± 0,02*	1,35 ± 0,77	77,98 ± 3,33*	1,42 ± 0,84
	suelo	15,38 ± 0,98	13,51 ± 2,07*	BDL	19,13 ± 2,17*	29,13 ± 1,07	18,05 ± 1,40
	BF	<u>0,33</u>	<u>0,00</u>	-	<u>0,07</u>	<u>2,68</u>	<u>0,08</u>
Lodo 1%	tejido	6,26 ± 0,48	0,65 ± 0,11*	1,03 ± 0,07*	1,40 ± 0,71	81,47 ± 0,75*	1,64 ± 0,64
	suelo	15,60 ± 0,71	13,19 ± 2,08*	BDL	18,13 ± 0,63*	29,94 ± 1,31	18,31 ± 0,85
	BF	<u>0,40</u>	<u>0,05</u>	-	<u>0,08</u>	<u>2,72</u>	<u>0,09</u>
Purin 0,1%	tejido	5,21 ± 0,13*	0,00 ± 0,00	1,56 ± 0,08	0,04 ± 0,06	79,99 ± 0,11*	1,57 ± 0,08*
	suelo	15,20 ± 0,34	11,05 ± 1,66*	BDL	16,90 ± 0,20*	27,19 ± 0,59	17,38 ± 0,44
	BF	<u>0,34</u>	<u>0,00</u>	-	<u>0,00</u>	<u>2,94</u>	<u>0,09</u>
Purin 0,25%	tejido	4,70 ± 1,43	0,00 ± 0,00	0,97 ± 0,34	0,07 ± 0,10	73,65 ± 14,38	1,22 ± 0,61*
	suelo	15,25 ± 1,15	8,48 ± 1,49*	BDL	16,92 ± 1,59*	28,27 ± 2,03	17,02 ± 0,97
	BF	<u>0,31</u>	<u>0,00</u>	-	<u>0,00</u>	<u>2,61</u>	<u>0,07</u>
Purin 0,5%	tejido	6,59 ± 1,18	0,26 ± 0,18	1,36 ± 0,06	0,88 ± 0,15	82,89 ± 5,63	3,44 ± 2,57
	suelo	15,93 ± 2,90	7,98 ± 1,63*	BDL	16,83 ± 2,18*	35,73 ± 18,49	16,63 ± 0,77
	BF	<u>0,41</u>	<u>0,03</u>	-	<u>0,05</u>	<u>2,32</u>	<u>0,21</u>
Purin 1%	tejido	5,62 ± 0,02	1,16 ± 0,40	1,18 ± 0,01*	1,41 ± 0,01	79,45 ± 0,72*	2,52 ± 0,28*
	suelo	14,83 ± 0,63	7,45 ± 3,33*	BDL	16,50 ± 2,83*	29,60 ± 1,87	17,81 ± 0,62*
	BF	<u>0,38</u>	<u>0,16</u>	-	<u>0,09</u>	<u>2,68</u>	<u>0,14</u>
Purin 5%	tejido	6,90 ± 1,99	0,73 ± 1,03	0,94 ± 0,14	0,26 ± 0,37	82,39 ± 13,74	1,17 ± 0,91
	suelo	14,35 ± 0,53	11,12 ± 3,22*	BDL	18,50 ± 0,71*	36,91 ± 2,07	16,28 ± 0,70
	BF	<u>0,48</u>	<u>0,07</u>	-	<u>0,01</u>	<u>2,23</u>	<u>0,07</u>

BF: factor de bioconcentración (*Bioconcentration Factor*). BDL: por debajo del límite de detección (*Below Detection Limit*). n(suelo)=4; n(tejido)=2. *:p<0,05 (diferencias estadísticamente significativas comparando con el Control, test t para tejido y test de Dunnett para suelo).

4.4.1. Metales pesados en el suelo

Aunque la concentración de metales pesados en el suelo control y en los residuos orgánicos esté por debajo de los niveles críticos definidos en la legislación (Consejo Europeo, 1986; BOE, 2005) es importante analizar si se acumulan en las lombrices debido al peligro que suponen las transferencias tróficas para los depredadores de lombrices (Suthar y Singh, 2009).

Las concentraciones de metales pesados no han variado demasiado entre las mezclas suelo-residuo. Las concentraciones de Cd han estado siempre por debajo de los límites de detección ($<0,1 \text{ mg kg}^{-1}$), siendo el metal que ha presentado la concentración más baja en los residuos orgánicos (Tabla II-4). El Pb (P_1 : 16,50 y B_{01} : 25,03), el Ni (P_5 : 16,28 y B_{01} : 22,25) y el Cu (P_5 : 14,35 y B_{10} : 22,43) presentaron variaciones suaves. Las variaciones más acentuadas en las concentraciones de metales pesados han ocurrido para el Cr (P_1 : 7,45 y B_{01} : 22,06) y para el Zn (P_{01} : 27,19 y B_{10} : 69,44). Comparando las concentraciones de Cr en el suelo Control con las obtenidas en las mezclas con residuos orgánicos, se ha verificado que la adición de residuos orgánicos contribuyó a la disminución de las concentraciones de Cr en el suelo. Contrariamente, la aplicación de residuos orgánicos incrementó la concentración de Zn en las mezclas suelo-residuo, sobre todo cuando se han aplicado las dosis más elevadas de Biof. De hecho, el Biof ha presentado concentraciones más elevadas de Zn que los demás residuos orgánicos (Tabla II-4). El incremento en la concentración de Zn del suelo después de la aplicación de residuos orgánicos ha sido descrita por otros autores (Nicholson et al., 2003; Carbonell et al., 2009).

4.4.2. Metales pesados en el tejido de *Eisenia fetida*

En el tejido de las lombrices las concentraciones de metales pesados han seguido el siguiente orden: $\text{Cr} < \text{Cd} < \text{Pb} < \text{Ni} < \text{Cu} < \text{Zn}$. Las concentraciones de Pb en el tejido de *E. fetida* han sido extremadamente bajas cuando las comparamos con las encontradas por otros autores (Langdon et al., 2005; Bradham et al., 2006). Las concentraciones de Cu fueron similares a las encontradas por Arnold y Hodson (2007) para *E. fetida*, después de depurar los individuos durante 24 h ($7,5 \pm 0,8 \text{ ppm}$). Las diferencias entre las concentraciones de metales en el tejido de las lombrices del suelo Control y de las lombrices sometidas a las mezclas suelo-residuo han sido significativas para el Zn y para el Ni (Tabla III-4.6). Las concentraciones de estos metales han sido superiores en las lombrices del suelo Control. Estos resultados están de

acuerdo con lo expuesto por Nahmani et al. (2007) en una revisión de diversos trabajos realizados para evaluar la captura de metales por lombrices: la bioacumulación de contaminantes por parte de las lombrices disminuye a medida que se incrementan las concentraciones en el suelo. Los mecanismos para la disminución de la acumulación de estos metales después de la aplicación de residuos orgánicos pueden incluir un incremento en la tasa de eliminación, como respuesta a un aumento en las concentraciones en el suelo, o un efecto toxicológico en el que la tasa metabólica de la lombriz es perturbada por elevadas concentraciones de metales (Nahmani et al., 2007). La biodisponibilidad de metales en los suelos es compleja, y no está solamente afectada por la concentración de metales en el suelo. Existe un gran número de factores que pueden modificar dicha disponibilidad, como son el pH, la MO y el contenido de partículas arcillosas, la cinética de la bioacumulación, del almacenamiento y de la excreción, y la tolerancia del organismo al elemento considerado (Bradham et al., 2006; van Gestel, 2008).

4.4.3. Factor de bioconcentración de metales (BF)

El factor de bioconcentración (BF) suele ser aplicado como un indicador de la biodisponibilidad de metales pesados (Langadon et al., 2005; Lédur et al., 2008). Se asume que los organismos alcanzan el equilibrio químico en relación a un determinado medio o a una ruta de exposición en particular.

El Cr ha variado entre valores por debajo del límite de detección ($< 7,1$ ppb) hasta 0,16, (P_1) por lo que no se ha calculado el respectivo BF. En general, para todos los residuos orgánicos, los factores de bioacumulación de metales pesados (BF) han seguido la secuencia: $Pb < Ni < Cu < Zn$. El BF para el Pb ha variado muy poco (P_{01} y P_{025} : 0,00; B_{01} y P_1 : 0,09), debido a las bajas concentraciones de Pb en el tejido. Lo mismo ha ocurrido para el Ni. También Carbonell et al. (2009) han obtenido valores de BF inferiores a uno para Cr, Ni y Pb en ejemplares de *E. fetida* sometidos a diferentes dosis de lodos de depuradora. El BF para el Cu ha variado entre 0,27 (B_{10}) y 0,55 (L_{025}). En las parcelas Control el BF para el Cu ha sido bajo (0,29) y se ha incrementado en los tratamientos con residuos orgánicos. El BF del Zn ha variado entre 1,37 (B_{10}) y 3,64 (C). El valor más bajo ha sido para el tratamiento B_{10} , debido a la superior concentración de Zn en la mezcla. El Cu y el Zn son elementos esenciales y pueden ser regulados por algunas especies, causando una concentración en el tejido casi

constante para diferentes concentraciones en el suelo (Morgan y Morgan, 1993; Morgan y Morgan 1999). El Cu y el Zn han tenido las variaciones más elevadas en el suelo y se esperaba que su BF fuera más o menos constante. No obstante, esto no ha pasado en este estudio. Puede que por las bajas concentraciones en el suelo, el tiempo de experimentación no haya sido suficientemente largo para lograr el equilibrio.

Los metales pesados en la mezcla no han sido responsables de la mortalidad de las lombrices y de la variación del peso corporal. Esto no ha sido sorprendente, pues ninguna mezcla ha logrado los valores LC50 indicados para esta especie (Tabla III-4.7). La mortalidad en las parcelas Control y L₅ no se ha debido a la toxicidad por metales. Otros contaminantes no analizados o posibles interacciones entre contaminantes pueden estar involucrados. También las propiedades del suelo o del residuo pueden haber contribuido a estos resultados.

Tabla III-4.7. Valores de LC50 descritos para *Eisenia fetida*.

Metal pesado	LC50 <i>E. fetida</i>	Referencia
Cu	683 mg kg ⁻¹	Spurgeon et al. (1994)
Pb	4480 mg kg ⁻¹	Spurgeon et al. (1994)
Zn	1010 mg kg ⁻¹	Spurgeon et al. (1994)
Cr	892 mg kg ⁻¹	Lock y Janssen (2002a)
Ni	362 mg kg ⁻¹	Lock y Janssen (2002b)

4.5. Síntesis de los resultados obtenidos sobre el efecto de dosis crecientes de residuos orgánicos en *Eisenia fetida*

Sorprendentemente, la mortalidad fue elevada en las parcelas Control, posiblemente debido a su elevada saturación en Al. No obstante, en este suelo la aplicación de residuos orgánicos ha resultado beneficiosa para la biología del mismo. El Biof, el Lodo y el Purín evaluados en este estudio son adecuados para utilizar como fertilizantes, pues su aplicación no ha sido letal para las lombrices. Solamente se ha registrado el 100 % de mortalidad cuando se ha utilizado el lodo en la mayor dosis (L₅). En este caso la mortalidad ha ocurrido posiblemente debido a las

condiciones anaeróbicas en las parcelas ó debido a los valores elevados de pH logrados en esta mezcla.

La variación del peso corporal ha sido un parámetro más sensible que la mortalidad, pues ha sido dependiente de la dosis de residuo utilizada.

Los metales pesados en la mezcla no han sido responsables de la mortalidad y de las variaciones del peso corporal, probablemente porque los valores LC50 descritos para *E. fetida* no han sido alcanzados en las mezclas suelo-residuo estudiadas. De entre los metales analizados, se han destacado el Ni y el Zn, cuyos valores en el tejido de las lombrices han disminuido después de la adición de los residuos orgánicos.

Aunque *E. fetida* sea generalmente elegida como la especie de referencia para los test de ecotoxicidad internacionales, en estudios futuros se debería evaluar también otras especies de lombrices más adaptadas a nuestras condiciones de suelo. Monroy et al. (2003) han verificado que la provincia de Lugo (NO España), donde se ha cogido el suelo Control, se caracteriza por la presencia de *Allolobophora caliginosa*, *A. oliveirae*, *Dendrobaena madeirensis* y *D. octaedra*.

Los ensayos de campo también deben ser considerados con el objetivo de entender mejor las implicaciones a largo-plazo de la utilización de estos residuos orgánicos como fertilizantes que presentan un mínimo riesgo para la biología del suelo.

IV. Conclusiones

A continuación, se presentan las conclusiones obtenidas en los diferentes trabajos reunidos en esta memoria en relación a los efectos producidos por la utilización de los residuos orgánicos y a los aspectos metodológicos.

Efectos químicos y biológicos

De la investigación sobre los efectos químicos y biológicos de la aplicación de estos residuos orgánicos en suelos de pradera de Galicia, los trabajos recogidos en esta memoria han demostrado que:

1. El lodo de depuradora de industria láctea (Lodo) y el estiércol deshidratado y granulado de pollo (Biof) han producido un efecto positivo, y superior al conseguido con un fertilizante mineral comercial, en la disminución de la acidez del suelo. Este fenómeno ha estado asociado a una disminución de la saturación en Al y a un incremento en la disponibilidad de nutrientes. Consecuentemente, estos dos residuos orgánicos han ocasionado un incremento de la productividad de forraje.
2. La riqueza de taxones y la abundancia de individuos de la macrofauna del suelo han sido inferiores en las parcelas fertilizadas con residuos orgánicos. Araneae, Carabidae, Homoptera, Diptera y Formicidae han sido los taxones responsables por las diferencias encontradas entre tratamientos/parcelas para los diferentes factores analizados.
3. Aplicando la metodología del GISQ (*General Indicator of Soil Quality*) ha sido posible identificar distintos tratamientos en suelos ácidos de pradera sometidos a diferentes tipos de fertilización. Aunque la tendencia no se haya mantenido a lo largo del tiempo, se han obtenido los valores más bajos del GISQ en los tratamientos Lodo y Biof, lo que se explica esencialmente por la contribución del subindicador Macrofauna. Sin embargo, cuando se han utilizado parcelas de una escala superior, las diferencias se han detectado más a nivel de uso del suelo (monte vs. pradera) que a nivel del tipo de fertilización (convencional vs. lodo).
4. A través de test de comportamiento de fuga con lombrices y con colémbolos, se ha demostrado que la adición de lodos de depuradora de industria láctea al plan de

fertilización convencional no ha inducido en la pérdida de la función de hábitat para los organismos evaluados.

5. La aplicación de estos residuos orgánicos no ha sido letal para lombrices y ha permitido incrementar su peso corporal. Esto ha ocurrido posiblemente por la baja concentración de metales pesados de los residuos, pero también debido a la modificación de las características ácidas del suelo por parte de aquellos.
6. Aunque los residuos orgánicos no presentaban niveles elevados de metales pesados, se han destacado el níquel (Ni) y el zinc (Zn), cuyos valores en el tejido de las lombrices han disminuido después de la adición de los residuos orgánicos.

Estrategias de fertilización y conservación

También ha sido posible concluir sobre aspectos a definir en la estrategia de fertilización con estos residuos orgánicos. A este nivel, se propone que:

1. Para favorecer el crecimiento del trébol en una pradera mixta, la estrategia de fertilización con residuos orgánicos deberá ser modificada con el objetivo de incrementar la disponibilidad de fósforo (P).
2. Una forma de minimizar el impacto negativo sobre los organismos del suelo que puedan surgir de la aplicación de purines y lodos frescos en suelos agrícolas, es elegir la época de aplicación de forma a que no se vean afectadas las probabilidades de emparejamiento entre las lombrices adultas y consecuentemente el tamaño de la población, siempre que no se comprometa la productividad del forraje.
3. Es fundamental el mantenimiento de zonas de monte junto con las praderas, pues contribuye a la conservación de la diversidad de las comunidades de fauna del suelo.

Parámetros indicadores

En relación a las metodologías utilizadas se contempla que:

1. La saturación en aluminio (Al) del suelo se ha desvelado como un parámetro más sensible que el pH al efecto de la aplicación de residuos en la acidez.

2. Los índices de diversidad calculados para las comunidades de macrofauna del suelo no han sido efectivos en detectar diferencias entre diferentes tratamientos fertilizantes.
3. El análisis multivariante de las comunidades de macrofauna ha sido más útil, pues ha permitido discriminar grupos e identificar los taxones responsables por las diferencias encontradas entre épocas de muestreo (primavera vs otoño), entre usos del suelo (pradera vs monte) y, en algunos casos, entre la fertilización con residuos orgánicos y la parcela de Monte (lodo vs monte).
4. Los taxones Araneae y Carabidae han sido los responsables de las principales diferencias encontradas entre tratamientos/parcelas (indicadores ecológicos), por lo que se recomienda, para reducir el esfuerzo de muestreo en futuros estudios, sin comprometer la calidad de los datos, centrar la atención en estos dos grupos.
5. Para contribuir a una posible validación del GISQ como indicador del efecto de la aplicación de fertilizantes orgánicos en suelos ácidos bajo pradera, se propone su utilización en un mayor número de parcelas (a la escala de la finca o superior) y sometidas a fertilización con residuos orgánicos de diferentes orígenes (compost, vermicompost, lodos de depuradora urbana, etc.).
6. El comportamiento de fuga de lombrices y colémbolos ha sido un parámetro sensible a diferentes planes de fertilización y se propone como herramienta previa a utilizar en la evaluación del impacto de los residuos en los suelos agrícolas.
7. La variación del peso corporal de lombrices ha sido un parámetro más sensible que la mortalidad, pues ha sido dependiente de la dosis de residuo utilizada.
8. Aunque *Eisenia fetida* sea generalmente elegida como la especie de referencia para los test de ecotoxicidad internacionales, en estudios futuros se debería, a mayores, evaluar otras especies de lombrices más adaptadas a nuestras condiciones de suelo (*Allolobophora caliginosa*, *A. oliveirae*, *Dendrobaena madeirensis* o *D. octaedra*).

La utilización de purín de vacuno, de lodo de depuradora de una industria láctea y de estiércol deshidratado y granulado de pollo (Biof) puede ser una alternativa a la utilización de fertilizantes minerales en suelos ácidos bajo pradera y en la monitorización de su impacto se deberá contemplar también la fauna del suelo.

Referencias bibliográficas

- Abbott L. K., Murphy D. V., 2003. What is soil biological fertility?, in: Abbott L. K. and Murphy D. V. (Eds), Soil biological fertility- a key to sustainable land use in agriculture. Kluwer Academic Publishers, 1-15.
- Aldaya M. M., Lors C., Salmon S., Ponge J.-F., 2006. Avoidance bio-assays may help to test the ecological significance of soil pollution. *Environmental Pollution*, 140, 173-180.
- Altieri M. A., 1999. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 74, 19-31.
- Alvarenga P., Palma P., Gonçalves A. P., Fernandes R. M., Cunha-Queda A. C., Duarte E., Vallini G., 2007. Evaluation of chemical and ecotoxicological characteristics of biodegradable organic residues for application to agricultural land. *Environment International*, 33, 505–513.
- Alvarez E., Martinez A., Calvo R., 1992. Geochemical aspects of aluminium in forest soils in Galicia (N.W. Spain). *Biogeochemistry*, 16, 167-180.
- Alvarez E., Monterroso C., Fernández-Marcos M. L., 2002. Aluminium fractionation in Galician (NW Spain) forest soil as related to vegetation and parent material. *Forest Ecology and Management*, 166, 193-206.
- Alvarez E., Fernández-Marcos M. L., Monterroso C., Fernández-Sanjurjo M. J., 2005. Application of aluminium toxicity indices to soils under various forest species. *Forest Ecology and Management*, 211, 227-239.
- Anderson I. C., Buxton D. R., Karlen D. L., Cambardella C., 1997. Cropping system effects on nitrogen removal, soil nitrogen, aggregate stability, and subsequent corn grain yield. *Agronomy Journal*, 89, (6), 881-886.
- Andres P., 1999. Ecological risks of the use of sewage sludge as fertilizer in soil restoration effects on the soil microarthropod populations. *Land Degradation & Development*, 10, (1), 67-77.
- Andres P., Domene X., 2005. Ecotoxicological and fertilizing effects dewatered, composted and dry sewage sludge on soil mesofauna: A TME experiment. *Ecotoxicology*, 14, (5), 545-557.
- Antolín M. C., Pascual I., García C., Polo A., Sánchez-Díaz M., 2005. Growth, yield and solute content of barley in soils treated with sewage sludge under semiarid Mediterranean conditions. *Field Crops Research*, 94, 224–237.
- Appels L., Baeyens J., Degreve J., Dewil R., 2008. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*, 34, (6), 755-781.
- Arnold R. E., Hodson M. E., 2007. Effect of time and mode of depuration on tissue copper concentrations of the earthworms *Eisenia andrei*, *Lumbricus rubellus* and *Lumbricus terrestris*. *Environmental Pollution*, 148, 21-30.
- Arshad M. A., Martin S., 2002. Identifying critical limits for soil quality indicators in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 88, 153-160.

- Attwood S. J., Maron M., House A. P. N., Zammit C., 2008. Do arthropod assemblages display globally consistent responses to intensified agricultural land use and management? *Global Ecology and Biogeography*, 17, 585–599.
- Bailey J. S., Laidlaw A. S., 1999. The interactive effects of phosphorus, potassium, lime and molybdenum on the growth and morphology of white clover (*Trifolium repens* L.) at establishment. *Grass and Forage Science*, 54, 69-76.
- Barrientos J. A., 1988. Bases para un curso práctico de entomología, Asociación Española de Entomología, Salamanca, 754 pp.
- Bastida F., Zsolnay A., Hernández T., García C., 2008a. Past, present and future of soil quality indices: A biological perspective. *Geoderma*, 147, 159-171.
- Bastida F., Kandeler E., Moreno J. L., Ros M., García C., Hernández T., 2008b. Application of fresh and composted organic wastes modifies structure, size and activity of soil microbial community under semiarid climate. *Applied Soil Ecology*, 40, 318-329.
- Baumont R., Aufrere J., Niderkorn V., Andueza D., Surault F., Peccatte J. R., Delaby L., Pelletier P., 2008. Specific diversity in forages: its consequences on the feeding value. *Fourrages*, 194, 189-206.
- Belausoff S., Kevan P. G., Murphy S., Swanton C., 2003. Assessing tillage disturbance on assemblages of ground beetles (Coleoptera : Carabidae) by using a range of ecological indices. *Biodiversity and Conservation*, 12, (5), 851-882.
- Benckiser G., 1997. Fauna in Soil Ecosystems: Recycling Processes, Nutrien fluxes, and Agricultural Production, Marcel Dekker, Inc., New York, 414 pp.
- Bengtsson J., Ahnstrom J., Weibull A. C., 2005. The effects of organic agriculture on biodiversity and abundance: a meta-analysis. *Journal of Applied Ecology*, 42, (2), 261-269.
- Benito N. P., Brossard M., Pasini A., Guimarães M. F., Bobillier B., 2004. Transformations of soil macroinvertebrate populations after native vegetation conversation to pasture cultivation (Brazilian Cerrado). *European Journal of Soil Biology*, 40, 147-154.
- Berek A. K., Radjagukguk B., Maas A., 1995. The effect of different organic materials on the alleviation of Al toxicity in soybean on a red-yellow podzolic soil, in: Date R. A., Grundon N. J., Rayment G. E. and Probert M. E. (Eds), *Plant-Soil Interactions at Low pH: Principles and Management*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 579-584.
- Bertsh R., 2000. Sludge from Dairy Effluent Treatment Plants. *International Dairy Federation (IDF) Bulletin*, 356, 1-7.
- Biaggini M., Consorti R., Dapporto L., Dellacasa M., Paggeti E., Corti C., 2007. The taxonomic level order as a possible tool for rapid assessment of arthropod diversity in agricultural landscapes. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 122, 183-191.
- Birkhofer K., Bezemer T. M., Bloem J., Bonkowski M., Christensen S., Dubois D., Ekelund F., Fliessbach A., Gunst L., Hedlund K., Mader P., Mikola J., Robin C., Setälä H., Tatin-Froux F., Van der Putten W. H., Scheu S., 2008a. Long-term organic farming fosters below and aboveground biota: Implications for soil quality, biological control and productivity. *Soil Biology & Biochemistry*, 40, (9), 2297-2308.

- Birkhofer K., Fliessbach A., Wise D. H., Scheu S., 2008b. Generalist predators in organically and conventionally managed grass-clover fields: implications for conservation biological control. *Annals of Applied Biology*, 153, (2), 271-280.
- Bitzer C. C., Sims J. T., 1988. Estimating the availability of nitrogen in poultry manure through laboratory and field studies. *Journal of Environmental Quality*, 17, (1), 47-54.
- Blair J. M., Bohlen P. J., Freckman D. W., 1996. Soil invertebrates as indicators of soil quality, in: Doran J. W. and Jones A. J. (Eds), *Methods for assessing soil quality*. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA, 273-291.
- BOE, 1990. Real Decreto 1310/1990, de 29 de octubre de 1990, que regula la utilización de los lodos de depuración en el sector agrario. *Boletín Oficial del Estado*. Madrid., 262, 32339 - 32340.
- BOE, 1996. Real Decreto 261/1996, de 16 de febrero, sobre protección de las aguas contra la contaminación producida por los nitratos procedentes de fuentes agrarias. *Boletín Oficial del Estado*. Madrid, 61, 9734-9737.
- BOE, 2001. Resolución de 14 de junio de 2001, de la Secretaría General de Medio Ambiente, por la que se dispone la publicación del Acuerdo de Consejo de Ministros, de 1 de junio de 2001, por el que se aprueba el Plan Nacional de Lodos de Depuradoras de Aguas Residuales 2001-2006. *Boletín Oficial del Estado*. Madrid, 166, 25297-25304.
- BOE, 2005. Real Decreto 824/2005, de 8 de julio, sobre productos fertilizantes. *Boletín Oficial del Estado*. Madrid, 171, 25592-25669.
- Bradham K. D., Dayton E. A., Basta N. T., Schroeder J., Payton M., 2006. Effect of soil properties on lead bioavailability and toxicity to earthworms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25, (3), 769-775.
- Burton C. H., Turner C., 2003. *Manure management – treatment strategies for sustainable agriculture*, 2nd ed., Silsoe Research Institute, Wrester Park, Silsoe, Bedford, 490 pp.
- Burton C. H., 2007. The potential contribution of separation technologies to the management of livestock manure. *Livestock Science*, 112, (3), 208-216.
- Callahan Jr. M. A., Richter Jr. D. D., Coleman D. C., Hofmockel M., 2006. Long-term land-use effects on soil invertebrate communities in Southern Piedmont soils, USA. *European Journal of Soil Biology*, 42, S150-S156.
- Capowiez Y., Rault M., Costagliola G., Mazzia C., 2005. Lethal and sublethal effects of imidacloprid on two earthworm species (*Aporrectodea nocturna* and *Allolobophora icterica*). *Biology and Fertility of Soils*, 41, (3), 135-143.
- Carbonell G., Pro J., Gómez N., Babín M. M., Fernández C., Alonso E., Tarazona J. V., 2009. Sewage sludge applied to agricultural soil: ecotoxicological effects on representative soil organisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 1309-1319.
- Carter M. R., Gregorich E. G., Angers D. A., Donald R. G., Bolinder M. A., 1998. Organic C and N storage, and organic C fractions, in adjacent cultivated and forested soils of eastern Canada. *Soil & Tillage Research*, 47, (3-4), 253-261.

- Caruso T., Pigino G., Bernini F., Bargagli R., Migliorini M., 2007. The Berger-Parker index as an effective tool for monitoring the biodiversity of disturbed soils: a case study on Mediterranean oribatid (Acari : Oribatida) assemblages. *Biodiversity and Conservation*, 16, (12), 3277-3285.
- Castro J., Mateo E., 1999. Ciclos de nutrientes en 12 explotaciones lecheras gallegas: P y K. *Actas de la XXXIX Reunión Científica de la SEEP*, 373-378.
- Castro J., 2002. Estrategia para un manexo sostible da fertilización das terras en Galicia: A reciclaxe do xurro como abono. *Cooperación*, 60.
- Cécillon L., Cassagne N., Czarnes S., Gros R., Vennetier M., Brun J. J., 2009. Predicting soil quality indices with near infrared analysis in a wildfire chronosequence. *Science of the Total Environment*, 407, 1200-1205.
- Clarke K. R., Warwick R. M., 2001. Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation, 2nd ed., PRIMER-E Ltd, Plymouth, England, 172 pp.
- Coleman D. C., Crossley Jr. D. A., Hendrix P. F., 2004. Fundamentals of soil ecology, 2nd ed., Elsevier Academic Press, Amsterdam, 386 pp.
- Comisión Europea, 2006. COM(2006) 406 Informe de la Comisión al Consejo y al Parlamento Europeo sobre la aplicación de la legislación comunitaria en materia de residuos correspondiente al periodo 2001-2003. 11 pp.
- Connell D., Lam P., Richardson B., Wu R., 1999. Introduction to ecotoxicology, Blackwell Science, Oxford, Malden, MA, 170 pp.
- Consejo Europeo, 1975. Directiva 75/442/CEE, de 15 de julio de 1975, relativa a los residuos. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, 194, 39-41.
- Consejo Europeo, 1986. Directiva del Consejo, de 12 de junio de 1986, sobre la protección del medio ambiente, y en particular del suelo, cuando se utilizan lodos de depuradora en agricultura. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, 181, 6-12.
- Consejo Europeo, 1991. Directiva 91/676/CE, de 12 de diciembre de 1991, para la protección de las aguas contra la contaminación provocada por los nitratos de origen agrícola. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, 375, 1-8.
- Consejo Europeo, 2002. Reglamento (CE) N° 1774/2002, de 3 de octubre de 2002, por el que se establecen las normas sanitarias aplicables a los subproductos animales no destinados al consumo humano. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, 273, 1-95.
- Consejo Europeo, 2003. Reglamento n° 2003/2003, de 13 de octubre, relativo a los abonos. *Diario Oficial de la Unión Europea*, 304, 1-194.
- Consejo Europeo, 2006. Directiva 2006/12/CE de 5 de abril de 2006, relativa a los residuos. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas* 27.4.2006, 114, 9-21.
- Conyers M. K., Poile G. J., Cullis B. R., 1991. Lime responses by barley as related to available soil aluminium and manganese. *Australian Journal of Agricultural Research*, 42, (3), 379-390.
- Crouau Y., Gisclard C., Perotti P., 2002. The use of *Folsomia candida* (Collembola, Isotomidae) in bioassays of waste. *Applied Soil Ecology*, 19, (1), 65-70.
- Curry J. P., 1994. Grassland invertebrates, 1st ed., Chapman & Hall, London, 437

- Cwalina-Ambroziak B., Bowszys T., 2009. Changes in fungal communities in organically fertilized soil. *Plant Soil Environment*, 55, (1), 25-32.
- da Silva R. F., de Aquino A. M., Mercante F. M., Guimarães M. F., 2006. Macrofauna invertebrada do solo sob diferentes sistemas de produção em Latossolo da Região do Cerrado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41, (4), 697-704.
- de Aquino A. M., da Silva R. F., Mercante F. M., Correia M. E. F., Guimarães M. F., Lavelle P., 2008. Invertebrate soil macrofauna under different ground cover plants in the no-till system in the Cerrado. *European Journal of Soil Biology*, 44, 191-197.
- Derraik J. G. B., Closs G. P., Dickinson K. J. M., Sirvid P., Barratt B. I. P., Patrick B. H., 2002. Arthropod morphospecies versus taxonomic species: a case study with Araneae, Coleoptera, and Lepidoptera. *Conservation Biology*, 16, (4), 1015-1023.
- Diez J. A., de la Torre A. I., Cartagena M. C., Carballo M., Vallejo A., Muñoz M. J., 2001. Evaluation of the application of pig slurry to an experimental crop using agronomic and ecotoxicological approaches. *Journal of Environmental Quality*, 30, (6), 2165-2172.
- Díaz-Burgos M. A., Ceccanti B., Polo A., 1993. Monitoring biochemical activity during sewage sludge composting. *Biology and Fertility of Soils*, 16, 145-150.
- Domene X., Alcañiz J. M., Andrés P., 2007. Ecotoxicological assessment of organic wastes using the soil collembolan *Folsomia candida*. *Applied Soil Ecology*, 35, (3), 461-472.
- Domene X., Ramirez W., Mattana S., Alcaniz J. M., Andres P., 2008. Ecological risk assessment of organic waste amendments using the species sensitivity distribution from a soil organisms test battery. *Environmental Pollution*, 155, (2), 227-236.
- Doran J. W., Parkin T. B., 1994. Defining and assessing soil quality, in: Doran J. W., Bezdicsek D. C. and Stewart B. A. (Eds), *Defining soil quality for a sustainable environment*. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, 3-21.
- Doran J. W., Parkin T. B., 1996. Quantitative indicators of soil quality: a minimum data set, in: Doran J. W. and Jones A. J. (Eds), *Methods for assessing soil quality*. Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, 25-37.
- Doube B. M., Schmidt O., 1997. Can the abundance or activity of soil macrofauna be used to indicate the biological health of soils?, in: Pankhurst C. E., Doube B. M. and Gupta V. V. S. R. (Eds), *Biological indicators of soil health*. CAB Internacional, Wallingford, UK, 265-295.
- Duthil J., 1989. *Poducción de forrajes*, 4th ed., Editorial Mundi-Prensa, Madrid, 367 pp.
- Edwards C. A., Bohlen P. J., 1996. *Biology and Ecology of Earthworms*, 3rd ed., Chapman & Hall, London, 426 pp.
- Ekschmitt K., Wolters V., Weber M., 1997. Spiders, carabids, and staphylinids: the ecological potential of predatory macroarthropods, in: Benckiser G. (Eds), *Fauna in soil ecosystems: recycling processes, nutrient fluxes, and agricultural production*. Marcel Dekker, Inc., New York, 307-362.
- El Nadi A. H., Rabie R. K., Abdel-Magid H. M., Sabrah R. E. A., Abdel-Aal A. H. I., 1995. Chemical, physico-chemical and microbiological examination of town refuse compost and chicken manure as organic fertilizers. *Journal of Arid Environments*, 30, 107-113.
- Evers G. W., 1998. Comparison of broiler poultry litter and commercial fertilizer for coastal bermudagrass production in the southeastern US. *J. Sustain. Agric.*, 12, (4), 55-77.

- Evers G. W., 2002. Ryegrass-bermudagrass production and nutrient uptake when combining nitrogen fertilizer with broiler litter. *Agronomy Journal*, 94, 905-910.
- Fageria N. K., Baligar V. C., Charles A. J., 2007. Mineral nutrition of field crops, 2nd ed., CHIPS- Plant Science Handbook, 624 pp.
- FAO, 1998. World reference base for soil resources. World Soil Resources Reports, 84, Food and Agriculture Organization. Rome.
- Farina M. P. W., Sumner M. E., Plank C. O., Letzsch W. S., 1980. Exchangeable Aluminum and pH as Indicators of Lime Requirement for Corn. *Soil Science Society of America Journal*, 44, (5), 1036-1041.
- Fieldes M., Perrot K. W., 1966. The nature of allophane in soils: 3. Rapid field and laboratory test for allophane. *New Zealand Journal of Science*, 9, 629-639.
- Fischer E., Molnar L., 1997. Growth and reproduction of *Eisenia fetida* (Oligochaeta, Lumbricidae) in semi-natural soil containing various metal chlorides. *Soil Biology & Biochemistry*, 29, (3/4), 667-670.
- Flynn R. P., Wood C. W., Guertal E. A., 1995. Lettuce response to composted broiler litter as a potting substrate component. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 120, 964-970.
- Forge T. A., Bittman S., Kowalenko C. G., 2005. Responses of grassland soil nematodes and protozoa to multi-year and single-year applications of dairy manure slurry and fertilizer. *Soil Biology & Biochemistry*, 37, (10), 1751-1762.
- Fountain M. T., Hopkin S. P., 2005. *Folsomia candida* (Collembola): A "standard" soil arthropod. *Annual Review of Entomology*, 50, 201-222.
- Fox R. H., 1979. Soil pH, Al saturation, and corn grain yield. *Soil Science*, 127, 330-335.
- Foy C. D., 1984. Physiological effects of hydrogen, aluminium and manganese toxicities in acid soils, in: Adams F. (Eds), *Soil acidity and liming*. American Society of Agronomy, Madison WI, 57-97.
- Frederickson J., Knight D., 1988. The use of anaerobically digested cattle solids for vermiculture, in: Edwards C. A. and Neuhauser E. F. (Eds), *Earthworms in Waste and Environmental Management*. SPB Academic Publishing, The Hague, 33-47.
- Gonçalves S. A., 2005. *Gestão de Resíduos Orgânicos*, SPI - Sociedade Portuguesa de Inovação, Porto, 104 pp.
- Gras R., Morisot A., 1974. Les déchets solides des industries agricoles et alimentaires. *Annales Agronomiques*, 25, 231-242.
- Gregorich E. G., Drury C. F., Baldock J. A., 2001. Changes in soil carbon under long-term maize in monoculture and legume-based rotation. *Canadian Journal of Soil Science*, 81, 21-31.
- Guerold F., 2000. Influence of taxonomic determination level on several community indices. *Water Research*, 34, (2), 487-492.
- Gutián F., Carballas T., 1976. *Técnicas de análisis de suelos*, 2 nd ed., Pico-Sacro, Santiago de Compostela, 288 pp.

- Gunadi B., Edwards C. A., 2003. The effects of multiple applications of different organic wastes on the growth, fecundity and survival of *Eisenia fetida* (Savigny) (Lumbricidae). *Pedobiologia*, 47, (4), 321-329.
- Haynes R. J., Naidu R., 1998. Influence of lime, fertilizer and manure applications on soil organic matter content and soil physical conditions: a review. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 51, (2), 123-137.
- Haynes R. J., Mokolobate M. S., 2001. Amelioration of Al toxicity and P deficiency in acid soils by additions of organic residues: a critical review of the phenomenon and the mechanisms involved. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 59, 47-63.
- Heinkens A., Peijnenburg W. J. G. M., Hendriks A. J., 2001. Bioaccumulation of heavy metals in terrestrial invertebrates. *Environmental Pollution*, 113, 385-393.
- Hendrix P. F., Parmelee R. W., Crossley D. A., Coleman D. C., Odum E. P., Groffman P. M., 1986. Detritus food webs in conventional and no-tillage agroecosystems. *Bioscience*, 36, (6), 374-380.
- Hue N. V., 1992. Correcting Soil Acidity of a Highly Weathered Ultisol with Chicken Manure and Sewage-Sludge. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 23, (3-4), 241-264.
- Hue N. V., Licudine D. L., 1999. Amelioration of subsoil acidity through surface application of organic manures. *Journal of Environmental Quality*, 28, (2), 623-632.
- Hund-Rinke K., Wiechering H., 2001. Earthworm avoidance test for soil assessments. An alternative for acute and reproduction tests. *Journal of Soils and Sediments*, 1, 15-20.
- Hund-Rinke K., Achazi R., Rombke J., Warnecke D., 2003. Avoidance test with *Eisenia fetida* as indicator for the habitat function of soils: Results of a laboratory comparison test. *Journal of Soils and Sediments*, 1, (3), 7-12.
- Huyghe C., Litrico I., 2008. Analysis of the relationship between the specific diversity and the agricultural value of pastures (study of the literature). *Fourrages*, 194, 147-160.
- INM, 2001. Guía Resumida del Clima en España 1971-2000, Ministerio de Medio Ambiente, Dirección General del Instituto Nacional de Meteorología, Madrid, 258 pp.
- INM, 2005. Resúmenes mensuales de los datos climatológicos de la Estación de Rozas (Lugo), solicitados al Instituto Nacional de Meteorología en 6 de junio de 2005.
- ISO, 1993. Soil quality-- Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*)-- Part 1. Determination of the acute toxicity using artificial substrate. ISO 11268-1. International Organization for Standardization, Geneva.
- ISO, 1996. Soil quality-- Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*)-- Part 2. Determination of effects on reproduction. ISO 11268-2. International Organization for Standardization, Geneva.
- ISO, 1998. Soil quality-- Determination of the water-retention characteristic. Laboratory methods. ISO 11274. International Organization for Standardization, Geneva.
- ISO, 1999. Soil quality-- Inhibition of reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by soil pollutants. ISO 11267. International Organization for Standardization, Geneva.

- ISO, 2007. Soil quality-- Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour-- Part 2: Test with collembolans (*Folsomia candida*). ISO/CD 17512-2. International Organization for Standardization, Geneve.
- ISO, 2008. Soil quality-- Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour -- Part 1: Test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). ISO 17512-1. International Organization for Standardization, Geneve.
- Issa J., Meehan B., Wilkinson K., Surapeneni A., 2007. The sustainable application of dairy factory sludges/wastes on Agricultural Land, Closing the loop- An holistic approach to the management of dairy processor waste streams, Final Report, RMIT University, Melbourne, Australia,
<http://diaa.asn.au/imagebank/Doc/Closing%20the%20Loop/Technical%20Reports/Sludge/2007%20Final%20Report%20Sustainable%20application%20of%20dairy%20sludgewas.pdf>
 (accedido en 22/01/2008).
- Jensen J., 1999. Fate and effects of linear alkylbenzene sulphonates (LAS) in the terrestrial environment. Science of the Total Environment, 226, (2-3), 93-111.
- Johnson J. M. F., Franzluebbers A. J., Weyers S. L., Reicosky D. C., 2007. Agricultural opportunities to mitigate greenhouse gas emissions. Environmental Pollution, 150, (1), 107-124.
- Jones C. G., Lawton J. H., Shachak M., 1994. Organisms as ecosystem engineers. Oikos, 69, 373-386.
- Kamprath E. J., 1970. Exchangeable aluminium as a criterion for liming leached mineral soils. Sci. Soc. Am. Proc., 34, 252-254.
- Kingery W. L., Wood C. W., Delaney D. P., Williams J. C., Mullins G. L., van Santen E., 1993. Implications of long-term land application of poultry litter on tall fescue pastures. Journal of Production Agriculture, 6, (3), 390-395.
- Kinney C. A., Furlong E. T., Kolpin D. W., Burkhardt M. R., Zaugg S. D., Werner S. L., Bossio J. P., Benotti M. J., 2008. Bioaccumulation of pharmaceuticals and other anthropogenic waste indicators in earthworms from agricultural soil amended with biosolid or swine manure. Environmental Science & Technology, 42, (6), 1863-1870.
- Kloepper-Sams P., Torfs F., Feijtel T., Gooch J., 1996. Effects assessments for surfactants in sludge-amended soils: A literature review and perspectives for terrestrial risk assessment. Science of the Total Environment, 185, (1-3), 171-185.
- Krebs C. J., 1999. Ecological Methodology, 2nd ed., Benjamin/Cummings.
- Krogh P. H., Holmstrup M., Jensen J., Petersen S. O., 1997. Ecotoxicological assessment of sewage sludge in agricultural soil, 69, Danish Environmental Protection Agency, Copenhagen, 53 pp.
- Krogh P. H., Pedersen M. B., 1997. Ecological effects of industrial sludge for microarthropods and decomposition in a spruce plantation. Ecotoxicological Environmental Safe, 36, 162-168.
- Küstermann B., Kainz M., Hülsbergen K. J., 2008. Modelling carbon cycles and estimation of greenhouse gas emissions from organic and conventional farming systems. Renewable Agriculture and Food Systems, 23, (1), 38-52.

- Lal R., 2004. Soil carbon sequestration to mitigate climate change. *Geoderma*, 123, (1-2), 1-22.
- Lande R., DeVries P. J., Walla T. R., 2000. When species accumulation curves intersect: implications for ranking diversity using small samples. *Oikos*, 89, (3), 601-605.
- Langdon C. J., Hodson M. E., Arnold R. E., Black S., 2005. Survival, Pb-uptake and behaviour of three species of earthworm in Pb treated soils determined using an OECD-style toxicity test and a soil avoidance test. *Environmental Pollution*, 138, 368-375.
- Larkin R. P., Honeycutt C. W., Griffin T. S., 2006. Effect of swine and dairy manure amendments on microbial communities in three soils as influenced by environmental conditions. *Biology and Fertility of Soils*, 43, 51-61.
- Lavelle P., Bignell D., Lepage M., Wolters V., Roger P., Ineson P., Heal O. W., Dhillon S., 1997. Soil function in a changing world: the role of invertebrate ecosystem engineers. *European Journal of Soil Biology*, 33, 159-193.
- Lavelle P., Decaens T., Aubert M., Barot S., Blouin M., Bureau F., Margerie P., Mora P., Rossi J. P., 2006. Soil invertebrates and ecosystem services. *European Journal of Soil Biology*, 42, S3-S15.
- Leduc F., Whalen J. K., Sunaharab G. I., 2008. Growth and reproduction of the earthworm *Eisenia fetida* after exposure to leachate from wood preservatives. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 69, 219-226.
- Liebig M. A., Doran J. W., 1999. Impact of organic production practices on soil quality indicators. *Journal of Environmental Quality*, 28, (5), 1601-1609.
- Linden D. R., Hendrix P. F., Coleman D. C., van Vleet P., 1994. Faunal indicators of soil quality, in: Doran J. W., et al (Eds), *Defining soil quality for a sustainable environment*. Soil Science Society of America, Madison, WI, 91-106.
- Lock K., Janssen C. R., 2002a. Ecotoxicity of chromium (III) to *Eisenia fetida*, *Enchytraeus albidus* and *Folsomia candida*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 51, 203-205.
- Lock K., Janssen C. R., 2002b. Ecotoxicity of nickel to *Eisenia fetida*, *Enchytraeus albidus* and *Folsomia candida*. *Chemosphere*, 46, 197-200.
- Lopez-Ridaura S., van der Werf H., Paillat J. M., Bertrand L. B., 2008. Environmental evaluation of transfer and treatment of excess pig slurry by life cycle assessment. *Journal of Environmental Management*, 1-9.
- Loureiro S., Soares A. M. V. M., Nogueira A. J. A., 2005. Terrestrial avoidance behaviour tests as screening tool to assess soil contamination. *Environmental Pollution*, 138, (1), 121-131.
- López-Arias M., Grau-Corbí J. M., 2004. Metales pesados, materia orgánica y otros parámetros de la capa superficial de los suelos agrícolas y de pasto de la España peninsular. II: Resultados por provincias, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Ministerio de Educación y Ciencia, Madrid, 383 pp.
- López-Mosquera M. E., Bande M. J., Seoane S., 2000. Evaluación del efecto salino en un suelo fertilizado con lodos de industria láctea. *Revista de la Sociedad Española de la Ciencia del Suelo*, 7, 73-83.

- López-Mosquera M. E., Alonso X. A., Sainz M. J., 2001. Short-term effects of soil amendment with dairy sludge on yield, botanical composition, mineral nutrition and arbuscular mycorrhization in a mixed sward. *Pastos*, 29, 231-243.
- López-Mosquera M. E., Barros R., Sainz M. J., Carral E., Seoane S., 2005. Metal concentrations in agricultural and forestry soils in northwest Spain: implications for disposal of organic wastes on acid soils. *Soil Use and Management*, 21, 298-305.
- López-Mosquera M. E., Cabaleiro F., Sainz M. J., López-Fabal A., Carral E., 2008. Fertilizing value of broiler litter: Effects of drying and pelletizing. *Bioresource Technology*, 99, 5626-5633.
- López-Ritas J., López-Melida J., 1990. El diagnostico de suelos y plantas (metodos de campo y laboratorio), 4th ed., Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, 363 pp.
- Lukkari T., Haimi J., 2005. Avoidance of Cu- and Zn-contaminated soil by three ecologically different earthworm species. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62, (1), 35-41.
- Macías F., Calvo R., García-Rodeja E., García C., Silva B., 1982. El material original: su formación e influencia en las propiedades de los suelos de Galicia. *Anales de Edagología y Agrobiología*, XLI, 1747-1768.
- Macías F., 1986. Los Suelos. El medio físico, in: de Torres Luna M. P. (Eds), *Geografía de Galicia*. Xuntanza, La Coruña, 456-508.
- Magurran A. E., 2004. *Measuring biological diversity*, 6th ed., Blackwell Publishing, Malden, 256 pp.
- Manlay R., Feller C., Swift M. J., 2007. Historical evolution of soil organic matter concepts and their relationship with the fertility and sustainability of cropping systems. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 119, 217-233.
- MAPA, 2005. *Anuario de Estadística Agroalimentaria 2003*, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid, 699 pp.
- Marinari S., Masciandaro G., Ceccanti B., Grego S., 2000. Influence of organic and mineral fertilisers on soil biological and physical properties. *Bioresource Technology*, 72, (1), 9-17.
- MARM, 2008a. *Anuario de estadística agroalimentaria y pesquera 2007*, Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Gobierno de España, Madrid, 908 pp.
- MARM, 2008b, Versión preliminar del Plan Nacional Integrado de Residuos (PNIR) 2008-2015. Anexo V: II Plan Nacional de Lodos de depuradoras de aguas residuales EDAR 2008-2015 (II PNLD). Ministerio de Medio Ambiente y de Medio Rural y Marino. Gobierno de España.
http://www.mma.es/portal/secciones/calidad_contaminacion/residuos/planificacion_residuos/pnir.htm, acedido en (18/05/2009).
- Materechera S. A., Mkhabela T. S., 2002. The effectiveness of lime, chicken manure and leaf litter ash in ameliorating acidity in a soil previously under black wattle (*Acacia mearnsii*) plantation. *Bioresource Technology*, 85, 9-16.
- McGeoch M. A., 1998. The selection, testing and application of terrestrial insects as bioindicators. *Biological Reviews*, 73, (2), 181-201.

- MeteoGalicia, 2008. Boletín mensual climatológico de la estación Campus Lugo. Consellería de Medio Ambiente, Territorio e Infraestruturas, Xunta de Galicia. <http://www.meteogalicia.es/galego/observacion/estacions/estacions.asp#> (accedido en 29/09/2008).
- Meyer M., 1996. Epigenic macrofauna, in: Schinner F., Öhlinger R., Kandeler E. and Margesin R. (Eds), *Methods in Soil Biology*. Springer, Berlin, 355-361.
- Migliorini M., Pigino G., Caruso T., Fanciulli P. P., Leonzio C., Bernini F., 2005. Soil communities (Acari Oribatida; Hexapoda Collembola) in a clay pigeon shooting range. *Pedobiologia*, 49, (1), 1-13.
- Mokolobate M. S., Haynes R. J., 2002a. Comparative liming effect of four organic residues applied to an acid soil. *Biol. Fertil. Soils*, 35, 79-85.
- Mokolobate M. S., Haynes R. J., 2002b. Increases in pH and soluble salts influence the effect that additions of organic residues have on concentrations of exchangeable and soil solution aluminum. *European Journal of Soil Science*, 53, 481-489.
- Moletta R., 2006. Caractérisation des effluents des industries agroalimentaires, in: Moletta R. (Eds), *Gestion des problèmes environnementaux dans les industries agroalimentaires*. Editions Tec & Doc, Collection Sciences & Techniques agroalimentaires, Paris, 15-27.
- Mombiela F. A., Mateo M. E., 1984. Necesidade de cal para pradera en terrenos a monte. *Anales del INIA. Serie Agrícola*, 25, 129-143.
- Monroy F., Aira M., Domínguez J., Mariño F., 2003. Distribution of earthworms in the north-west of the Iberian Peninsula. *European Journal of Soil Biology*, 39, 13-18.
- Monroy F., Aira M., Domínguez J., Velando A., 2006. Seasonal population dynamics of *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) (Oligochaeta, Lumbricidae) in the field. *C. R. Biologies*, 329, 912-915.
- Moore Jr. P. A., Edwards D. R., 2005. Long-term effects of poultry litter, alum-treated litter, and ammonium nitrate on aluminium availability in soils. *Journal of Environmental Quality*, 36, 163-174.
- Moreira R., Sousa J. P., Canhoto C., 2008. Biological testing of a digested sewage sludge and derived composts. *Bioresource Technology*, 99, 8382-8389.
- Morgan J. E., Morgan A. J., 1993. Seasonal changes in tissue-metal (Cd, Zn and Pb) concentrations in two ecophysiologically dissimilar earthworm species: pollution-monitoring implications. *Environmental Pollution*, 82, 1-7.
- Morgan J. E., Morgan A. J., 1999. The accumulation of metals (Cd, Cu, Pb, Zn and Ca) by two ecologically contrasting earthworms species (*Lumbricus rubellus* and *Aporrectodea caliginosa*): implications for ecotoxicological testing. *Applied Soil Ecology*, 13, 9-20.
- Mosquera-Losada M. R., González-Rodríguez A., 1999. Pasture production in Northern Spain dairy system. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 42, 125-132.
- Nahmani J., Lavelle P., Rossi J. P., 2006. Does changing the taxonomical resolution alter the value of soil macroinvertebrates as bioindicators of metal pollution? *Soil Biology & Biochemistry*, 38, 385-396.

- Nahmani J., Hodson M. E., Black S., 2007. Effects of metals on life cycle parameters of the earthworm *Eisenia fetida* exposed to field-contaminated, metal-polluted soils. *Environmental Pollution*, 149, (1), 44-58.
- Naramabuye F. X., Haynes R. J., Modi A. T., 2008. Cattle manure and grass residues as liming materials in a semi-subsistence farming system. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 124, 136-141.
- Natal-Da-Luz T., Ribeiro R., Sousa J. P., 2004. Avoidance tests with collembola and earthworms as early screening tools for site-specific assessment of polluted soils. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23, (9), 2188-2193.
- Natal-Da-Luz T., Rombke J., Sousa J. P., 2008. Avoidance tests in site-specific risk assessment-influence of soil properties on the avoidance response of collembola and earthworms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27, (5), 1112-1117.
- Natal-Da-Luz T., Tidona S., Jesus B., Morais P. V., Sousa J. P., 2009. The use of sewage sludge as soil amendment. The need for an ecotoxicological evaluation. *Journal of Soils and Sediments*, 9, (3), 246-260.
- Neuhauser E. F., Loehr R. C., Malecki M. R., 1988. The potential of earthworms for managing sewage sludge, in: Edwards C. A. and Neuhauser E. F. (Eds), *Earthworms in Waste and Environmental Management*. SPB Academic Publishing, The Hague, 9-20.
- Nicholson F. A., Smith S. R., Alloway B. J., Carlton-Smith C., Chambers B. J., 2003. An inventory of heavy metal input to agricultural soil in England and Wales. *Science of The Total Environment*, 311, 205-219.
- Niemeyer J. C., dos-Santos V. C., Rodrigues J. M. L., da-Silva E. M., 2006. Comportamento de *Cubaris murina* Brandt (Crustacea: Isopoda) em Solo com Glifosato: Testes de Fuga em Laboratório. *J. Braz. Soc. Ecotoxicol.*, 1, (1), 1-4.
- Nkem J. N., Lobry de Bruyn L. A., Hulugalle N. R., Grant C. D., 2002. Changes in invertebrate populations over the growing cycle of an N-fertilised and unfertilized wheat crop in rotation with cotton in a grey Vertisol. *Applied Soil Ecology*, 20, 69-74.
- Olfert O., Johnson G. D., Brandt S. A., Thomas A. G., 2002. Use of arthropod diversity and abundance to evaluate cropping systems. *Agronomy Journal*, 94, 210-216.
- Oliver I., Beattie A. J., 1996. Designing a cost-effective invertebrate survey: a test of methods for rapid assessment of biodiversity. *Ecological Applications*, 6, (2), 594-607.
- Oliver I., Garden D., Greenslade P. J., Haller B., Rodgers D., Seeman O., Johnston B., 2005. Effects of fertiliser and grazing on the arthropod communities of a native grassland in south-eastern Australia. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 109, (3-4), 323-334.
- Olsen R. A., Dean L. A., 1965. Phosphorous, in: Black C. A. (Eds), *Methods of soil science*. Amer. Soc. of Agronomy, Madison, Wisconsin, 403-430.
- Olvera-Velona A., Capowiez Y., Mascle O., Ortiz-Hernandez L., Benoit P., 2008. Assessment of the toxicity of ethyl-parathion to earthworms (*Aporrectodea caliginosa*) using behavioural, physiological and biochemical markers. *Applied Soil Ecology*, 40, 476-483.
- Osler G. H. R., Sommerkorn M., 2007. Toward a complete soil C and N cycle: incorporating the soil fauna. *Ecology*, 88, (7), 1611-1621.

- Pandard P., Devillers J., Charissou A. M., Poulsen V., Jourdain M. J., Férard J. F., Grand C., Bispo A., 2006. Selecting a battery of bioassays for ecotoxicological characterization of wastes. *Science of the Total Environment*, 363, 114-125.
- Pankhurst C. E., 1997. Biodiversity of Soil Organisms as an Indicator of Soil Health, in: Pankhurst C. E., Doube B. M. and Gupta V. V. S. R. (Eds), *Biological Indicators of Soil Health*. CAB International, 297-324.
- Paoletti M. G., 1999. Using bioindicators based on biodiversity to assess landscape sustainability. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 74, (1-3), 1-18.
- Parisi V., 2001. The biological soil quality, a method based on microarthropods. *Acta Naturalia de l'Ateneo Parmense*, 37, 97-106.
- Pearce J. L., Venier L. A., 2006. The use of ground beetles (Coleoptera : Carabidae) and spiders (Araneae) as bioindicators of sustainable forest management: A review. *Ecological Indicators*, 6, (4), 780-793.
- Peech M., Alexander L. T., Dean L., Reed J. F., 1947. *Methods of soil analysis for soil fertility investigations*. USDA Circular 757, US Government Printing Office, Washington DC, 25 pp.
- Perner J., Malt S., 2003. Assessment of changing agricultural land use: response of vegetation, ground-dwelling spiders and beetles to the conversion of arable land into grassland. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 98, (1-3), 169-181.
- Petersen S. O., Henriksen K., Mortensen G. K., Krogh P. H., Brandt K. K., Sørensen J., Madsen T., Petersen J., Grøn C., 2003. Recycling of sewage sludge and household compost to arable land: fate and effects of organic contaminants, and impact on soil fertility. *Soil Tillage and Research*, 72, 139-152.
- Petersen S. O., Regina K., Pollinger A., Rigler E., Valli L., Yamulki S., Esala M., Fabbri C., Syvasalo E., Vinther F. P., 2006. Nitrous oxide emissions from organic and conventional crop rotations in five European countries. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 112, (2-3), 200-206.
- Phillips D. R., Bolger T., 1998. Sublethal toxic effects of aluminium on the earthworm *Eisenia fetida*. *Pedobiologia*, 42, (2), 125-130.
- Piñeiro J., Pérez M., 1977. *Pratenses en Galicia*. *Agricultura*, 46, 544-551.
- Ponge J. F., Gillet S., Dubs F., Fedoroff E., Haese L., Sousa J. P., Lavelle P., 2003. Collembolan communities as bioindicators of land use intensification. *Soil Biology & Biochemistry*, 35, 813-826.
- Pratt R. G., 2008. Fungal population levels in soils of commercial swine waste disposal sites and relationships to soil nutrient concentrations. *Applied Soil Ecology*, 38, 223-229.
- Price G. W., Voroney R. P., 2007. Response to annual applications of de-inked paper biosolids by field earthworms on three agricultural soils. *Applied Soil Ecology*, 38, (3), 230-238.
- Rainio J., Niemela J., 2003. Ground beetles (Coleoptera : Carabidae) as bioindicators. *Biodiversity and Conservation*, 12, (3), 487-506.

- Rangeley A., Newbould P., 1985. Growth responses to lime and fertilizers and critical concentrations in herbage of white clover in Scottish hill soils. *Grass and Forage Science*, 40, 265-277.
- Reeves D. W., 1997. The role of soil organic matter in maintaining soil quality in continuous cropping systems. *Soil & Tillage Research*, 43, 131-167.
- Rosa E. V. C., Giuradelliy T. M., Corrêa A. X. R., Rorig L. R., Schwingel P. R., Resgalla-Jr. C., Radetski C. M., 2007. Ecotoxicological evaluation of the short term effects of fresh and stabilized textile sludges before application in forest soil restoration. *Environmental Pollution*, 146, 463-469.
- Rossi J. P., Blanchart E., 2005. Seasonal and land-use induced variations of soil macrofauna composition in the western Ghats, southern India. *Soil Biology & Biochemistry*, 37, 1093-1104.
- Rossi J. P., Franc A., Rousseau G. X., 2009. Indicating soil quality and the GISQ (Letter to the editor). *Soil Biology & Biochemistry*, 41, 444-445.
- Ruiz-Camacho N., 2004. Mise au point d'un système de bioindication de la qualité du sol basé sur l'étude des peuplements de macroinvertébrés, Tesis doctoral, Université Paris VI, Paris, 270 pp.
- Rushton S. P., Luff M. L., Eyre M. D., 1989. The effects of pasture improvement and management on the ground beetle and spider communities of upland grasslands. *Journal of Applied Ecology*, 26, 489-503.
- Sainz M. J., Matos-Moreira M., Bande M. J., López-Mosquera M. E., 2006. Forage production in sown meadows under several organic fertilization strategies. *Grassland and Science in Europe*, 11, 700-702.
- Schils R. L. M., van Groenigen J. W., Velthof G. L., Kuikman P. J., 2008. Nitrous oxide emissions from multiple combined applications of fertiliser and cattle slurry to grassland. *Plant and Soil*, 310, (1-2), 89-101.
- Sengelov G., Agerso Y., Halling-Sorensen B., Baloda S. B., Andersen J. S., Jensen L. B., 2003. Bacterial antibiotic resistance levels in Danish farmland as a result of treatment with pig manure slurry. *Environment International*, 28, (7), 587-595.
- Sims J. T., Wolf D. C., 1994. Poultry Waste Management - Agricultural and Environmental-Issues, *Advances in Agronomy*, Vol 52, 1-83
- Sleugh B., Moore K. J., George J. R., Brummer E. C., 2000. Binary legume-grass mixtures improve forage yield, quality, and seasonal distribution. *Agronomy Journal*, 92, (1), 24-29.
- Smith K. A., Charles D. R., Moorhouse D., 2000. Nitrogen excretion by farm livestock with respect to land spreading requirements and controlling nitrogen losses to ground and surface waters. Part 2: pigs and poultry. *Bioresource Technology*, 71, (2), 183-194.
- Smith P., Martino D., Cai Z., Gwary D., Janzen H., Kumar P., McCarl B., Ogle S., O'Mara F., Rice C., Scholes B., Sirotenko O., Howden M., McAllister T., Pan G., Romanenkov V., Schneider U., Towprayoon S., Wattenbach M., Smith J., 2008. Greenhouse gas mitigation in agriculture. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 363, (1492), 789-813.

- Spurgeon D. J., Hopkin S. P., Jones D. T., 1994. Effects of cadmium, copper, lead and zinc on growth, reproduction and survival of the earthworm *Eisenia fetida* (Savigny): assessing the environmental impact of point-source metal contamination in terrestrial ecosystems. *Environmental Pollution*, 84, 123-130.
- Sun X., Luo N., Longhurst B., Luo J., 2008. Fertiliser nitrogen and factors affecting pasture responses. *The Open Agriculture Journal*, 2, 35-42.
- Suthar S., Singh S., 2009. Bioconcentrations of metals (Fe, Cu, Zn, Pb) in earthworms (*Eisenia fetida*), inoculated in municipal sewage sludge: do earthworms pose a possible risk of terrestrial food chain contamination? *Environmental Toxicology*, 24, 25-32.
- Swift, M.J., Heal, O.W., Anderson, J.M., 1979. *Decomposition in Terrestrial Ecosystems*. Blackwell Scientific, Oxford.
- Swift M. J., Izac A. M. N., van Noordwijk M., 2004. Biodiversity and ecosystem services in agricultural landscapes - are we asking the right questions? *Agriculture Ecosystems & Environment*, 104, (1), 113-134.
- Tang Y., Zhang H., Schroder J. L., Payton M. E., Zhou D., 2007. Animal manure reduces aluminum toxicity in an acid soil. *Soil Science Society of America Journal*, 71, (6), 1699-1707.
- Thioulouse J., Chessel D., Dolédec S., Olivier J. M., 1997. ADE-4: a multivariate analysis and graphical display software. *Statistical Computation*, 7, 2-15.
- Tomlin A. D., Protz R., Martin R. R., McCabe D. C., Lagace R. J., 1993. Relationships amongst organic matter content, heavy metal concentrations, earthworm activity, and soil microfabric on a sewage sludge disposal site. *Geoderma*, 57, 89-103.
- Uehara-Prado M., Fernandes J. D., Bello A. D., Machado G., Santos A. J., Vaz-de-Mello F. Z., Freitas A. V. L., 2009. Selecting terrestrial arthropods as indicators of small-scale disturbance: A first approach in the Brazilian Atlantic Forest. *Biological Conservation*, 142, (6), 1220-1228.
- Urbano-Terrón P., 2002. *Fitotecnia: ingeniería de la producción vegetal*, Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, 528 pp.
- US EPA, 1995. Method 3051: Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils, in: *Test methods for evaluating solid waste*. US Environmental Protection Agency, Washington DC.
- van Gestel C. A. M., Hoogerwerf G., 2001. Influence of soil pH on the toxicity of aluminium for *Eisenia andrei* (Oligochaeta : Lumbricidae) in an artificial soil substrate. *Pedobiologia*, 45, (5), 385-395.
- van Gestel C. A. M., 2008. Physico-chemical and biological parameters determine metal bioavailability in soils. *Science of the Total Environment*, 406, 385-395.
- van Straalen N. M., 1997. Community structure of soil arthropods as a bioindicator of soil health, in: Pankhurst C. E., Doube B. M. and Gupta V. V. S. R. (Eds), *Biological indicators of soil health*. CAB International, Wallingford, UK, 235-264.
- van Straalen N. M., 1998. Evaluation of bioindicator systems derived from soil arthropod communities. *Applied Soil Ecology*, 9, 429-437.

- Velasquez E., Lavelle P., Andrade M., 2007. GISQ, a multifunctional indicator of soil quality. *Soil Biology & Biochemistry*, 39, 3066-3080.
- Venglovsky J., Martinez J., Placha I., 2006. Hygienic and ecological risks connected with utilization of animal manures and biosolids in agriculture. *Livestock Science*, 102, (3), 197-203.
- Volkmar C., Freier B., 2003. Spider communities in Bt. maize and not genetically modified maize fields. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection*, 110, (6), 572-582.
- Wardle D. A., Nicholson K. S., Bonner K. I., Yeates G. W., 1999. Effects of agricultural intensification on soil-associated arthropod population dynamics, community structure, diversity and temporal variability over a seven-year period. *Soil Biology and Biochemistry*, 31, 1691-1706.
- Westerman P. W., Bicudo J. R., 2005. Management considerations for organic waste use in agriculture. *Bioresource Technology*, 96, (2), 215-221.
- Whalen J. K., Chang C., Clayton G. W., Carefoot J. P., 2000. Cattle manure amendments can increase the pH of acid soils. *Soil Science Society of America Journal*, 64, 962-966.
- Wheeler D. M., 1998. Investigation into the mechanisms causing lime responses in a grass/clover pasture on a clay loam soil. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 41, (4), 497-515.
- Xunta de Galicia, 1999. Código galego de boas prácticas agrarias, Xunta de Galicia, Santiago de Compostela, 73 pp.
- Yeardley R. B., Lazorchak J. M., Gast L. C., 1996. The potential of an earthworm avoidance test for evaluation of hazardous waste sites. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15, (9), 1532-1537.
- Zahradnik J., 1989. Guía práctica de los coleópteros de España y de Europa, Omega, Barcelona, 570 pp.
- Zar J., 1996. *Biostatistical Analysis*, 3 rd ed., Prentice-Hall, Upper Saddle River, New Jersey, 918 pp.
- Zdruli P., Jones R. J. A., Montanarella L., 2004. Organic matter in the soils of southern europe. *European Soil Bureau Research Report No.15*, Office for Official Publications of The European Communities, Luxembourg, 17 pp.
- Zemenchik R. A., Albrecht K. A., Shaver R. D., 2002. Improved nutritive value of kura clover- and birdsfoot trefoil-grass mixtures compared with grass monocultures. *Agronomy Journal*, 94, (5), 1131-1138.
- Zhu X., Chen Y. Y., Li D. L., 2008. An integrated indicator-based system for soil environmental quality assessment in sustainable rehabilitation of mine waste area. *Applied and Computational Mathematics*, 303-308.
- Zolda P., 2006. Nematode communities of grazed and ungrazed semi-natural steppe grasslands in Eastern Austria. *Pedobiologia*, 50, (1), 11-22.

ANEXO I

Procesos de producción del estiércol deshidratado y granulado de pollo (Biof) y de los lodos utilizados en los trabajos experimentales

1. Biof

La empresa Aviporto, dedicada a la cría de pollos de engorde, ubicada en Portomarín (Galicia), ha desarrollado un método de deshidratación y granulado de estiércol de pollo. En una primera fase, el estiércol fresco atraviesa un conducto de secado a 250 °C, después es triturado en un martillo industrial, homogeneizado y granulado en una prensa de granulado para obtener gránulos de 5 mm de diámetro y 12-14 mm de largo (Figura Anexo-1a). El proceso de deshidratación y granulado reduce el contenido de humedad, con lo que el producto resultante es más fácil de almacenar, transportar y aplicar en el campo (Figura Anexo-1b y 1c). El valor fertilizante de este residuo orgánico convertido en fertilizante comercial ha sido estudiado por López-Mosquera et al. (2008). El proceso de deshidratación y granulado permite eliminar el problema de lixiviados y malos olores en su almacenamiento, y conseguir un abono totalmente higienizado, aumentando el valor económico del estiércol de pollo como abono. La dosis recomendada para la fertilización de praderas es de 4500 kg ha⁻¹ en una única aplicación anual.

Para más información sobre la empresa consultar www.aviporto.com.

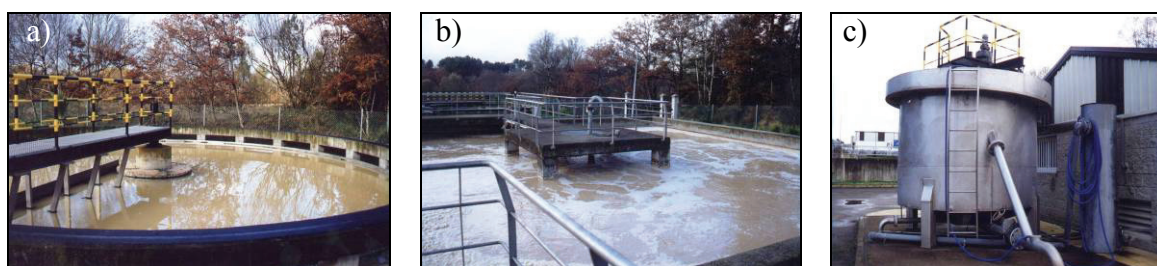


Fotos cedidas por Francisco Cabaleiro (Universidad de Santiago de Compostela).

Figura Anexo-1. Producción de Biof: a) Planta de transformación del estiércol, b) y c) producto comercial obtenido de la deshidratación y granulado del estiércol.

2. Lodos

La fabrica de leche UHT, Lactalis- Leche de Galicia, S.A., ubicada en Vilalba (Lugo), produce anualmente 135 millones de litros de leche, generando un volumen de aguas residuales de $98900 \text{ m}^3 \text{ año}^{-1}$. Las aguas residuales están compuestas por restos de leche (debido a pérdidas irremediables en el proceso) y soluciones de limpieza que incluyen agua, hidróxido sódico y ácido nítrico. Su proceso de depuración consta de tres etapas: tratamiento primario, tratamiento secundario y decantación secundaria.



Fotos cedidas por Elvira López Mosquera (Universidad de Santiago de Compostela).

Figura Anexo-2. Producción de lodos: a) decantador de las aguas residuales, b) digestor aeróbico, c) floculador.

El tratamiento primario se inicia en las balsas de neutralización, donde se estabiliza el pH. Una vez filtradas, las aguas residuales son enviadas hacia los tanques de aireación, donde comienza el tratamiento secundario. En esta etapa, un aireador proporciona el oxígeno necesario para el desarrollo de los microorganismos que van a efectuar la depuración del agua, y un agitador asegura la homogeneidad de la mezcla e impide la decantación (Figura Anexo-2a). De las balsas de aireación el agua sale ya depurada con fangos que son arrastrados por la misma hacia el decantador (Figura Anexo-2b). El agua depurada es evacuada de la superficie de la balsa hacia un depósito del que son enviadas al cauce fluvial. De los fangos decantados, una parte es devuelta a las balsas de aireación, para renovar el fango y mantener constante el extracto seco, y la otra parte es enviada a un floculador (Figura Anexo-2c). El floculador permite concentrar los fangos empleando un polielectrolito catiónico cuya materia activa es poliacrilamida catiónica. El agua sobrante de la decantación es devuelta al sistema de depuración, recirculándola hacia las balsas de aireación. Los lodos resultantes se almacenan en una balsa, donde un agitador lo mantiene homogéneo y evita la formación de

costras superficiales en espera de su posterior reciclado en terrenos agrícolas. Durante todo el proceso se analiza la composición del afluente, del efluente y del lodo resultante.

La producción anual de lodos se estima en $4828 \text{ m}^3 \text{ año}^{-1}$ y, según datos del 2007, casi la totalidad es aplicada en terrenos agrícolas (4705 m^3).

Para más información sobre la empresa consultar www.lactalisiberia.es.

ANEXO II

Introducción y conclusiones traducidas al francés

para efectos de solicitud de Mención Europea en el título de Doctor

1. Introduction

Dans un passé pas si lointain, les pratiques agricoles traditionnelles se basaient sur l'application au sol de résidus organiques, surtout de fumiers et de purins. De cette manière on favorisait le recyclage graduel des nutriments et on améliorait les niveaux de matière organique des sols. Alors, les impacts de ces résidus sur le milieu étaient réduits, du fait de la qualité des produits ajoutés ainsi que de leur faible disponibilité. Ces cinquante dernières années, l'intensification de l'activité agricole et d'élevage a mené une hausse du cheptel par exploitation et en conséquence provoqué une production et une accumulation de grande quantité de résidus. L'augmentation des cheptels associée à la diminution de l'autosuffisance fourragère de l'exploitation et/ou à l'application d'engrais minéraux et de pesticides pour la production fourragère a fragilisé la relation de complémentarité entre les productions agricoles et d'élevage; il en résulte que l'application des résidus organiques animaux dans le sol s'est convertie en une question environnementale importante. Une gestion insuffisante des résidus dans l'exploitation peut affecter les cours d'eau, les chaînes trophiques et contribuer à la pollution atmosphérique. Cela étant, le développement doit prendre en compte de plus en plus les impacts environnementaux qu'il peut produire et devra inclure le concept de production durable, fondamentalement à travers la mise à profit de la valeur fertilisante de ces résidus, moyennant une application rationnelle au sol et sa valorisation.

Conjointement à l'intensification de l'activité agricole et d'élevage, l'augmentation de la population, sa concentration urbaine et ses habitudes ont contribué à l'expansion des industries agroalimentaires afin d'assurer la conservation des produits durant plus longtemps et faciliter sa distribution. Ces industries forment un secteur important de l'économie et son activité est fréquemment associée à la production de différents résidus organiques biodégradables. Dans des régions comme la Galice où l'activité agricole est centrée sur l'élevage bovin pour la production de lait, les industries dédiées à sa transformation et emballage constituent une part fondamentale du secteur

agroalimentaire et le volume de résidus organiques générés peut-être important. Ces dernières années, la hausse de l'activité industrielle génératrice d'eaux résiduelles et la généralisation des systèmes qui les traitent ont provoqué l'augmentation de la production de boues d'épuration, apparaissant alors le problème de leur élimination à moindre coût et avec un impact environnemental réduit. Le recyclage de ces résidus organiques à travers leur incorporation aux sols agricoles et forestiers est une des voies conseillées en vue de leur élimination, car de même que le résidu est éliminé de manière économique les sols récepteurs bénéficient d'un apport en matière organique et en nutriments. Cependant, l'application de résidus organiques (d'origine agricole, d'élevage ou industrielle) aux sols n'est pas exempte de risques, pouvant provoquer la dégradation du milieu et affecter la santé humaine et animale. Il est donc fondamental que l'emploi de ces matériaux dans le sol soit réglementé et suivi.

Actuellement, la réglementation de l'utilisation des résidus organiques dans les sols agricoles est limitée aux contenus en nutriments présents dans le résidu, aux nécessités de la culture réceptrice, aux contenus contaminants du résidu, au risque de contamination des eaux par les nitrates et au contenu en métaux lourds du résidu et des sols. Cependant, la compréhension écologique du sol est essentielle pour palier l'impact de l'activité humaine et conserver la biologie (McGeoch, 1998). Ce faisant, le suivi de pratiques anthropogéniques, comme l'application de résidus organiques doit prendre en compte la biologie du sol. Parmi les qualités de la biologie du sol, la sensibilité de la faune aux perturbations du milieu et le fait d'intégrer des processus physiques, chimiques et biologiques sont des attributs que permettent l'utilisation comme indicateur de l'impact de pratiques anthropogéniques sur les communautés biotiques (Blair et al., 1996; Doube y Schmidt, 1997; Paoletti, 1999; Olfert, 2002; Lavelle et al., 2006).

L'identification des effets de l'application de résidus organiques sur la faune du sol avec comme base la spécificité locale est un premier pas vers la conservation des agroécosystèmes de prairie en Galice.

Objectifs

Le principal objectif du travail repris par ce mémoire est d'évaluer les effets chimiques et biologiques de l'application de résidus organiques sur des sols de prairie en Galice.

On a adopté une évaluation intégrée, où les analyses chimiques du sol et des résidus ont été croisées avec la productivité de la culture et des paramètres de la biologie du sol (au niveau des communautés et au niveau de l'individu) dans le but de rencontrer des indicateurs des effets de ces résidus. Pour ce faire, les objectifs spécifiques suivants ont été adoptés :

1. Évaluer sur un site expérimental de plein champ les effets pluriannuels de trois résidus organiques (*Purin* : purin bovin, *Boue* : boues d'épuration d'industrie laitière et *Biof*¹⁰ : fumier déshydraté et granulé de volaille) sur les caractéristiques physico-chimiques du sol, sur la productivité et sur la composition botanique du fourrage en ayant pour objectif de trouver des paramètres qui puissent servir d'indicateurs de qualité d'un sol acide et ayant un bon niveau de matière organique.
2. Vérifier, à travers des mesures écologiques appropriées et en utilisant différentes échelles (temporelle et spatiale), que l'utilisation des communautés de la macrofaune du sol comme indicateur écologique et viable pour évaluer l'impact écologique du à l'application de résidus organiques.
3. Contribuer à la caractérisation écotoxicologique des résidus organiques utilisés, à travers la quantification de paramètres de comportement (test d'évitement avec vers de terre et collemboles) et de paramètres physiologiques (mortalité, croissance et bioaccumulation des vers de terre), et évaluer le potentiel de ces paramètres comme indicateurs écologiques pour le suivi de la valorisation agricole de ces résidus organiques.

Méthodologie générale

Pour atteindre ces objectifs, dans le chapitre I, on aborde les aspects généraux (appuyés par la bibliographie) liés aux concepts de résidus organiques (types, caractéristiques et législation), de qualité du sol (définition et indicateurs) et de faune du sol (fonctions et suivi). La méthodologie du travail expérimental est présentée dans le chapitre II où l'on décrit la zone d'étude, le dispositif expérimental et les principaux protocoles utilisés pour l'échantillonnage et le traitement des prélèvements obtenus lors des expériences sur site et en laboratoire ainsi que les outils utilisés dans le traitement de données. Les

¹⁰ Marque commerciale du fumier déshydraté et granulé de volaille utilisé.

Résultats et Discussion sont quant à eux présentés dans le chapitre III qui est divisé en quatre parties en fonction des données présentées et discutées :

- Dans la première partie on analyse les paramètres chimiques, la productivité et la composition botanique du fourrage obtenu dans un site expérimental de plein champ où différents types d'épandages sont réalisés (*Ensayo Dirigido*) dans le but de répondre à l'objectif spécifique I.
- Dans la deuxième partie on traite les données obtenues pour les communautés de macrofaune du site expérimental (*Ensayo Dirigido*) et celles des parcelles agricoles où le plan de fertilisation adopté par l'agriculteur n'a pas été modifié (*Parcelas Monitorizadas*) et on tente de répondre au second objectif spécifique présenté.
- La troisième partie est fondée sur les données obtenues lors des test d'évitement avec vers de terre et collemboles et cherche à répondre en partie au dernier objectif spécifique proposé. La partie pratique a été réalisée en collaboration avec le Département de Zoologie de la Faculté des Sciences et Technologies de l'Université de Coimbra (Portugal).
- La dernière partie est basée sur les données obtenues pour les paramètres physiologiques des vers de terre et tente de répondre à une autre partie du troisième objectif présenté. Ce travail applique la méthodologie éprouvée durant un séjour au Laboratoire de Toxicologie Environnementale de l'Institut National de Recherche Agronomique (INRA) d'Avignon (France).

On clôt le chapitre IV avec les principales conclusions tirées des travaux réalisés, faisant référence aux effets des résidus organiques et aux méthodologies employées, et avec des perspectives en vue de recherches futures.

2. Conclusions

À suivre on présente les conclusions obtenues dans les différents travaux réunis dans ce mémoire qui ont trait aux effets produits par l'utilisation de ces résidus et aux aspects méthodologiques.

Effets chimiques et biologiques

De la recherche sur les effets chimiques et biologiques de l'application de ces résidus organiques sur des sols de prairie de Galice, il a été démontré dans les différents travaux de ce mémoire que:

1. La boue et le fumier déshydraté et granulé de volaille (Biof) ont produit un effet positif, et supérieur à celui obtenu par un engrais minéral commercial, sur la diminution de l'acidité du sol. Ce phénomène a été associé à la diminution de la saturation en aluminium (Al) et à l'augmentation des nutriments disponibles. En conséquence, ces résidus organiques ont occasionné une augmentation de la productivité fourragère.
2. La richesse en taxons et l'abondance en individus ont été inférieures dans les parcelles fertilisées avec des résidus organiques. Araneae, Carabidae, Homoptera, Diptera y Formicidae ont été les taxons responsables des différences rencontrées entre traitements/parcelles pour les divers facteurs analysés.
3. Il a été possible d'appliquer la méthodologie GISQ (*General Indicator of Soil Quality*) à une situation pour laquelle elle n'avait encore jamais été employée: sols acides de prairie soumis à l'application de résidus organiques. Cependant, pour des parcelles de taille supérieure, les différences ont été détectées plus au niveau de l'utilisation faite du sol (maquis vs. prairie) qu'au niveau du type de fertilisation (conventionnel vs boues).
4. On a démontré, à travers le test d'évitement des vers de terre et des collembolles, que l'addition de boues d'épuration d'industrie laitière au plan de fertilisation conventionnel n'a pas induit une perte de « fonction d'habitat » pour les organismes soumis à évaluation.
5. L'application de ces résidus organiques n'a pas été létale pour les vers de terre et a permis l'augmentation de leur poids corporel. Cela est probablement dû à la basse concentration en métaux lourds des résidus, mais également à la modification des caractéristiques acides du sol du fait de leur application.

6. Bien que les résidus organiques ne présentassent pas de niveaux élevés en métaux lourds, nickel (Ni) et zinc (Zn) se sont mis en évidence, leur valeur dans le tissu des vers de terre ayant diminué suite à l'addition des résidus organiques.

Stratégies de fertilisation et de conservation

Il a également été possible de tirer des conclusions sur certains aspects à définir dans la stratégie de fertilisation par ces résidus organiques. À ce niveau on propose ce qui suit:

1. Pour favoriser la croissance du trèfle en prairie mixte, on devra modifier la stratégie de fertilisation par ces résidus organiques dans l'objectif d'augmenter la disponibilité en phosphore (P).
2. Une manière de minimiser l'impact négatif sur les organismes du sol qui peuvent surgir de l'application de purins et de boues fraîches sur des sols agricoles, est choisir l'époque d'épandage de façon à ne pas affecter les probabilités d'accouplement entre vers de terre adultes et en conséquence leur population. Cela sans compromettre la productivité fourragère.
3. Maintenir des zones de maquis aux côtés des prairies est fondamental étant donné que leur présence contribue à la conservation de la diversité des communautés de la faune du sol.

Paramètres indicateurs

En relation avec les méthodologies utilisées il ressort que:

1. La saturation en Al du dol s'est révélée être un paramètre plus sensible que le pH à l'effet de l'épandage des résidus sur l'acidité.
2. Les indices de diversité calculés pour les communautés de macrofaune du sol n'ont pas été efficaces à l'heure de détecter des différences entre divers traitements fertilisants.
3. L'analyse multivariée des communautés de macrofaune a été plus utile car elle a permis d'isoler des groupes et d'identifier les taxons responsables des différences rencontrées entre époques de prélèvement (printemps vs. automne) entre utilisations faites du sol (prairie vs. maquis) et, dans certains cas, entre la

fertilisation avec des résidus organiques et la parcelle de maquis (boue vs maquis).

4. Les taxons Araneae et Carabidae ont été responsables des principales différences rencontrées entre traitements/parcelles (indicateurs écologiques). On recommande donc, pour réduire l'effort de prélèvement dans de futures études, sans compromettre la qualité des données, de se concentrer sur ces deux groupes.
5. Pour contribuer à une possible validation du GISQ (*General Indicator of Soil Quality*) en tant qu'indicateur de l'effet de l'épandage d'engrais organiques sur des sols acides de prairie, on propose son utilisation dans un plus grand nombre de parcelles (à l'échelle de la ferme ou supérieure) soumises à une fertilisation avec des résidus organiques de diverses origines (compost, vermicompost, boues d'épuration urbaines, etc.).
6. Le comportement d'évitement des vers de terre et des collemboles a été un paramètre sensible aux différents plans de fertilisation et par conséquent on le propose comme outil préliminaire à utiliser lors de l'évaluation de l'impact des résidus sur les sols agricoles.
7. La variation du poids corporel des vers de terre a été un paramètre plus sensible que la mortalité, puisqu'elle a dépendu de la dose de résidu utilisée.
8. Bien que *Eisenia fetida* soit généralement choisie comme espèce de référence pour les tests d'écotoxicité internationales, dans le futur on devra évaluer en plus d'autres espèces de vers de terre plus adaptées aux conditions de nos sols (*Allolobophora caliginosa*, *A. oliveirae*, *Dendrobaena madeirensis* ou *D. octaedra*)

L'utilisation de purin bovin, de boues d'épuration d'industrie laitière et de fumier déshydraté et granulé de volaille peut être une alternative à l'utilisation d'engrais minéraux sur des sols acides de prairie. Dans le suivi de son impact on devra inclure également la faune du sol.

